



# Analyse automatisée du signal électrocardiographique dans les arythmies atriales chez le rat vigil

Clément Gallet

## ► To cite this version:

Clément Gallet. Analyse automatisée du signal électrocardiographique dans les arythmies atriales chez le rat vigil. Autre. Université Claude Bernard - Lyon I, 2013. Français. NNT : 2013LYO10219 . tel-01164632

**HAL Id: tel-01164632**

**<https://theses.hal.science/tel-01164632>**

Submitted on 17 Jun 2015

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

No d'ordre : 219-2013

Année 2013

THÈSE DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

Délivrée par

**L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON 1**

**École Doctorale Interdisciplinaire Sciences Santé**

**DIPLÔME DE DOCTORAT**

(arrêté du 7 août 2006)

Spécialité : Traitement du signal et de l'image

*soutenue publiquement le 12 novembre 2013*

*par*

**Clément GALLET**

**Analyse automatisée du signal  
électrocardiographique dans les arythmies atriales  
chez le rat vigil**

Directeurs de thèse : M. le Docteur Claude JULIEN et M. le Professeur Philippe  
CHEVALIER

**JURY**

M. le Professeur	Guy CARRAULT
M. le Professeur	Philippe CHEVALIER
M. le Professeur	Jean-Luc ELGHOZI
M. le Docteur	Claude JULIEN
M. le Professeur	Jean-Luc PASQUIÉ

# UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

## **Président de l'Université**

Vice-président du Conseil d'Administration  
Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire  
Vice-président du Conseil Scientifique  
Directeur Général des Services

## **M. François-Noël GILLY**

M. le Professeur Hamda BEN HADID  
M. le Professeur Philippe LALLE  
M. le Professeur Germain GILLET  
M. Alain HELLEU

## *COMPOSANTES SANTE*

Faculté de Médecine Lyon Est - Claude Bernard  
Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud - Charles Mérieux  
Faculté d'Odontologie  
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques  
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation  
Département de formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE  
Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON  
Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS  
Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA  
Directeur : M. le Professeur Y. MATILLON  
Directeur : M. le Professeur P. FARGE

## *COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE*

Faculté des Sciences et Technologies  
Département Biologie  
Département Chimie Biochimie  
Département GEP  
Département Informatique  
Département Mathématiques  
Département Mécanique  
Département Physique  
Département Sciences de la Terre  
UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives  
Observatoire des Sciences de l'Univers de Lyon  
Polytech Lyon  
Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique  
Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1  
Institut Universitaire de Formation des Maîtres  
Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : M. le Professeur F. DE MARCHI  
Directeur : M. le Professeur F. FLEURY  
Directeur : Mme le Professeur H. PARROT  
Directeur : M. N. SIAUVE  
Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE  
Directeur : M. le Professeur A. GOLDMAN  
Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID  
Directeur : Mme S. FLECK  
Directeur : Mme la Professeure I. DANIEL  
Directeur : M. C. COLLIGNON  
Directeur : M. B. GUIDERDONI  
Directeur : M. P. FOURNIER  
Directeur : M. G. PIGNAULT  
Directeur : M. C. VITON  
Directeur : M. A. MOUGNIOTTE  
Administrateur provisoire : M. N. LEBOISNE

# Résumé

La fibrillation atriale est la plus fréquente des arythmies cardiaques et sa physiopathologie reste mal comprise. Il n'existe pas actuellement de modèle animal dans lequel cette arythmie survienne de manière spontanée. Comme l'âge et l'hypertension artérielle sont deux facteurs de risque majeurs de la fibrillation atriale chez l'Homme, nous avons recherché si le rat spontanément hypertendu (SHR) vieillissant (11-13 mois d'âge) développe cette pathologie.

Des enregistrements télémétriques de 24 h de l'électrocardiogramme (ECG) ont été réalisés dans 4 groupes de rats vigils. Ils ont révélé chez le rat SHR vieillissant la présence de nombreux épisodes de tachyarythmie atriale non soutenus, épisodes qui ne sont pas observés chez le rat SHR jeune ni chez le rat normotendu Wistar Kyoto jeune ou vieillissant.

Les résultats rapportés ci-dessus ont été obtenus grâce à l'analyse visuelle de l'intégralité de chaque enregistrement ECG, ce qui représente une durée d'analyse incompatible avec des expérimentations de routine. Nous avons donc choisi de développer une méthode automatique de reconnaissance des arythmies atriales chez le rat vigil. Cette méthode utilise exclusivement les intervalles RR car les ondes P ne peuvent pas toujours être identifiées avec fiabilité dans les enregistrements télémétriques de l'ECG. Elle repère les motifs caractéristiques de tachyarythmie grâce à une structure d'automate, et présente une bonne performance sur les enregistrements télémétriques déjà réalisés.

Le nouveau modèle animal, conjointement à la nouvelle méthode automatique d'analyse de l'ECG, devrait permettre de réaliser les analyses phénotypiques de qualité indispensables aux hypothèses physiopathologiques moléculaires actuellement avancées dans la fibrillation atriale.

# Summary

Atrial fibrillation is the most common cardiac arrhythmia and its pathophysiology is still poorly understood. To date, there is no animal model in which the arrhythmia occurs spontaneously. As age and hypertension are major risk factors of atrial fibrillation in humans, we examined whether the aging (11-13 months of age) spontaneously hypertensive rat (SHR) develops this pathology.

Telemetric recordings of electrocardiogram (ECG) were obtained in four groups of conscious rats. They revealed the presence in the aging SHR of many non-sustained atrial tachyarrhythmic episodes that were observed neither in the young SHR nor in the young or aging normotensive Wistar Kyoto rat.

These results were obtained by visual examination of the whole ECG recordings, which is extremely time consuming and thus, not compatible with routine experiments. Therefore, we chose to develop an automated method to detect atrial arrhythmias in the conscious rat. This method only uses RR intervals because P waves cannot always be accurately identified in telemetric recordings. It recognises characteristic patterns of tachyarrhythmia by using an automaton structure, and shows a good performance when applied to previously collected telemetric data.

The new animal model, together with the new, automated method of ECG analysis, are expected to be extremely useful for producing high quality phenotypic data, which are necessary to test present molecular hypotheses of atrial fibrillation pathophysiology.

# Table des matières

<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>I. Étude bibliographique</b>	<b>3</b>
<b>1. Physiopathologie de la fibrillation atriale</b>	<b>4</b>
1.1. Anatomie fonctionnelle cardiaque . . . . .	4
1.1.1. Le cycle cardiaque . . . . .	4
1.1.2. Le rôle du système nerveux autonome . . . . .	5
1.2. Enregistrement électrocardiographique . . . . .	7
1.3. Interprétation de l'ECG . . . . .	9
1.4. Physiopathologie de la fibrillation atriale . . . . .	11
1.5. Modèles animaux de fibrillation atriale . . . . .	14
1.5.1. Modèles chez les gros animaux . . . . .	14
1.5.2. Modèles muridés . . . . .	14
1.5.2.1. Chez le rat . . . . .	15
1.5.2.2. Chez la souris . . . . .	16
<b>2. Détection automatique de la FA</b>	<b>19</b>
2.1. Chez l'homme . . . . .	19
2.1.1. Structure . . . . .	19
2.1.1.1. Prétraitement . . . . .	19
2.1.1.2. Extraction des paramètres . . . . .	21
2.1.1.3. Réduction de l'ensemble des paramètres . . . . .	22
2.1.1.4. Classification . . . . .	22
2.1.2. Performances . . . . .	26
2.2. Chez l'animal . . . . .	28

<b>II. Travail personnel</b>	<b>33</b>
<b>3. Matériel et méthodes</b>	<b>34</b>
3.1. Animaux . . . . .	34
3.2. Procédures . . . . .	34
3.2.1. Enregistrement de l'électrocardiogramme . . . . .	34
3.2.2. Enregistrement de la pression artérielle . . . . .	34
3.3. Protocoles . . . . .	35
3.3.1. Application d'un stress émotionnel . . . . .	35
3.3.2. Injection sous-cutanée de carbamylcholine . . . . .	36
3.4. Analyses . . . . .	36
3.4.1. Détection automatique des ondes R . . . . .	36
3.4.2. Détection automatique des artéfacts . . . . .	37
3.4.3. Analyse visuelle des arythmies . . . . .	37
3.4.4. Analyse automatique des arythmies . . . . .	40
3.4.5. Analyse de la variabilité sinusale . . . . .	45
<b>4. Tachyarythmies atriales spontanées chez le rat spontanément hypertendu vieillissant : rôle du système nerveux autonome</b>	<b>46</b>
<b>5. Détection automatique des arythmies atriales fondée sur l'analyse des intervalles RR chez le rat vigilant</b>	<b>55</b>
<b>Discussion</b>	<b>66</b>
<b>Références</b>	<b>69</b>

# Introduction

Depuis l'avènement de l'informatique en recherche biomédicale, l'automatisation des procédures de traitement du signal a permis de faire des progrès significatifs dans le diagnostic et la compréhension des mécanismes de certaines pathologies cardio-vasculaires. Dans le domaine des troubles du rythme cardiaque, une difficulté majeure est le repérage et l'identification des événements arythmiques. La fibrillation atriale (FA) est exemplaire à ce titre. Cette maladie, fréquente chez les patients âgés et hypertendus, et dangereuse par ses complications thromboemboliques, peut poser des problèmes diagnostiques (Mant *et al.* 2007).

Par ailleurs, la FA est une maladie complexe, résultat probable de l'interaction entre plusieurs traits génétiques et facteurs environnementaux. Sa physiopathologie reste mal comprise, et donc son traitement assez largement empirique. L'une des raisons à cela est qu'il n'existe pas de modèle animal présentant spontanément des épisodes de FA. Les modèles existants sont soit des modèles de susceptibilité accrue à la FA expérimentalement induite, soit des modèles de FA survenant sur un cœur préconditionné par entraînement atrial chronique.

Ce travail de thèse a donc eu un double objectif : d'une part, caractériser le phénotype arythmique du rat spontanément hypertendu vieillissant, pressenti comme un bon candidat du fait de la combinaison qu'il réalise de deux facteurs de risque majeurs de la FA, et, d'autre part, développer une méthode automatisée d'analyse des tracés électrocardiographiques recueillis au moyen d'une seule dérivation par radio-télémétrie sur de longues périodes de temps chez des rats vigils et non restreints.

Depuis les premiers enregistrements que nous avons effectués chez des rats spontanément hypertendus vieillissants, une étude publiée par un autre groupe a confirmé que ces animaux pouvaient constituer un bon modèle d'étude de la FA (Lau *et al.* 2013). Il convient de noter que l'absolue nécessité de développer une méthode automatisée de détection des arythmies s'est imposée au terme de cette première étude pour laquelle nous ne disposions pas de méthode automatique d'analyse des tracés électrocardiographiques.

Au total, nous espérons que ce travail de thèse illustre bien l'intérêt d'une approche



transdisciplinaire des pathologies complexes telles que la FA pour lesquelles un phénotypage soigneux est indispensable à l'interprétation des données recueillies par ailleurs (données histologiques, électrophysiologiques et moléculaires). Ce type d'approche requiert des compétences dans les domaines de la physiologie et de l'ingénierie. De ce fait, le lecteur est averti que la partie bibliographique contient certains développements qui pourront apparaître naïfs ou même triviaux aux physiologistes dans le domaine qui les concerne directement, et réciproquement, aux ingénieurs, dans le leur.

**Première partie .**

**Étude bibliographique**

# 1. Physiopathologie de la fibrillation atriale

## 1.1. Anatomie fonctionnelle cardiaque

Le cœur est un organe dont la contraction assure la circulation du sang dans le système vasculaire. Il est constitué de deux parties séparées par une cloison musculaire appelée septum, et chaque partie est composée de deux cavités : une oreillette et un ventricule. Une valve présente entre les deux cavités assure un passage unidirectionnel du sang de l'oreillette vers le ventricule. Le cœur est relié au reste de la circulation par un ensemble d'artères et de veines (Figure 1.1). D'autres valves sont présentes entre le ventricule droit et l'artère pulmonaire, ainsi qu'entre le ventricule gauche et l'artère aorte, pour éviter un reflux sanguin vers le cœur. Le cœur droit amène le sang pauvre en oxygène vers les poumons. Le cœur gauche fournit le sang oxygéné à l'ensemble des circulations régionales de l'organisme.

### 1.1.1. Le cycle cardiaque

Les parois du cœur sont constituées principalement de cellules musculaires spécialisées appelées cardiomyocytes. La contraction synchronisée et périodique de ces cellules forme le battement cardiaque. Celui-ci comporte trois étapes :

**La systole auriculaire :** les oreillettes se contractent et éjectent le sang dans les ventricules.

**La systole ventriculaire :** les ventricules se contractent et éjectent le sang vers les circulations pulmonaire et systémique.

**La diastole :** le cœur entier est relaxé pour permettre le remplissage sanguin.

La contraction cardiaque est déclenchée par une dépolarisation des cardiomyocytes, qui se propage de proche en proche. Cette dépolarisation est initiée par le nœud sinusal,

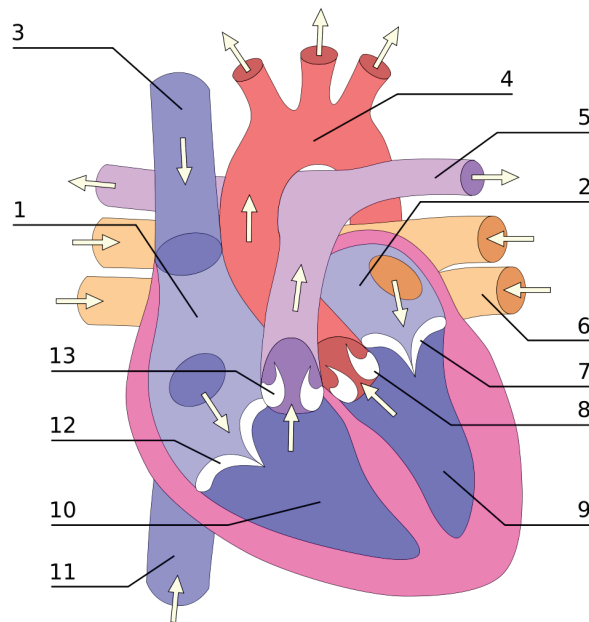


FIGURE 1.1.: Schéma anatomique du cœur humain. (1) oreillette droite ; (2) oreillette gauche ; (3) veine cave supérieure ; (4) aorte ; (5) artère pulmonaire ; (6) veine pulmonaire ; (7) valve mitrale ; (8) valve aortique ; (9) ventricule gauche ; (10) ventricule droit ; (11) veine cave inférieure ; (12) valve tricuspide ; (13) valve sigmoïde.

situé dans la paroi de l'oreillette droite. Elle parcourt ensuite les voies de conduction intra-auriculaires (provoquant la contraction des oreillettes) jusqu'au nœud auriculo-ventriculaire. Ce nœud bloque l'impulsion pendant un court instant, puis la transmet, via le faisceau de His, aux fibres de Purkinje et enfin aux cardiomyocytes ventriculaires (Figure 1.2).

### 1.1.2. Le rôle du système nerveux autonome

Le nœud sinusal possède la propriété d'automatisme, c'est-à-dire qu'il se dépolarise spontanément à intervalles réguliers (Figure 1.3), ce qui définit la période cardiaque. Cependant, cette période cardiaque peut être modulée, principalement sous l'effet d'influences nerveuses (système nerveux autonome, SNA) ou hormonales (hormones thyroïdiennes), ainsi que de variations de la température corporelle, de la kaliémie, etc. Les deux branches du SNA ont un effet opposé sur la fréquence cardiaque : l'activation parasympathique diminue la fréquence cardiaque alors que l'activation (ortho)sympathique l'augmente.

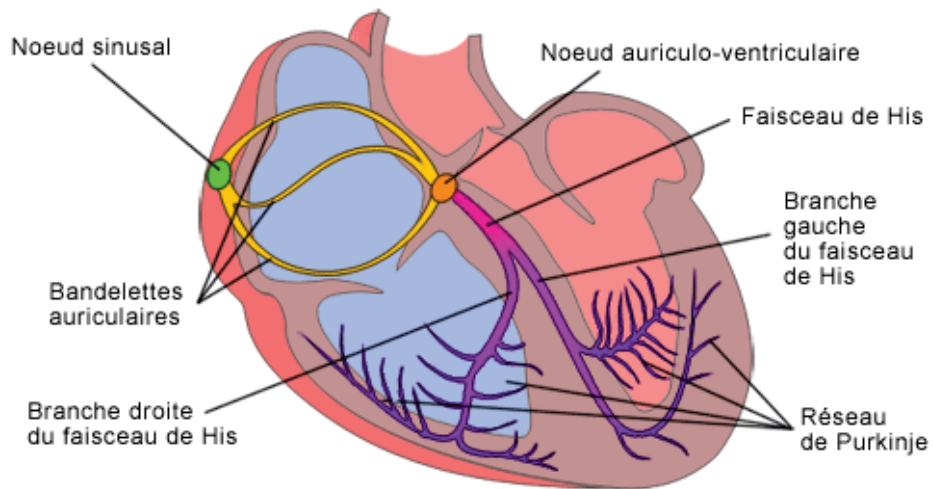


FIGURE 1.2.: Schéma des voies de conduction cardiaque.

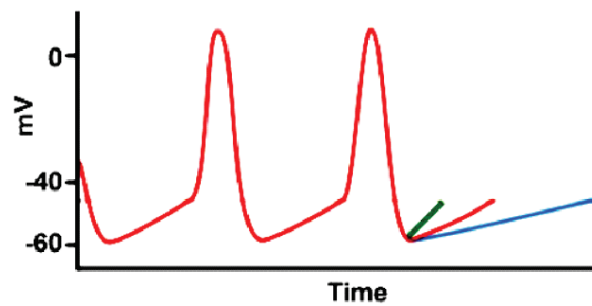


FIGURE 1.3.: Variations de potentiel d'une cellule nodale. Noter la dépolarisation diastolique lente dont la pente est augmentée au cours d'une activation sympathique (tracé en vert) et diminuée au cours d'une activation parasympathique (tracé en bleu).

Les oreillettes sont richement innervées par des fibres sympathiques et vagales, alors que les ventricules sont innervés surtout par des fibres sympathiques. Outre cette disparité anatomique, il existe également des différences importantes de la réponse physiologique, qui est beaucoup plus rapide pour les fibres cholinergiques (vagales) que pour les terminaisons adrénergiques (sympathiques). L'effet dynamique résultant est donc caractérisé par une hétérogénéité dans le temps et l'espace expliquant la complexité des interactions des deux branches du SNA sur le cœur. Sur le plan électrophysiologique, la stimulation vagale raccourcit la période réfractaire (période pendant laquelle un nouveau potentiel d'action ne peut pas être provoqué) des oreillettes et la durée du potentiel d'action, augmente la dispersion des périodes réfractaires et provoque une hyperpolarisation cellulaire (Olshansky 2005) ; de son côté, la stimulation sympathique, tout en raccourcissant la période réfractaire atriale et le potentiel d'action, n'a pas d'effet sur l'hétérogénéité des périodes réfractaires. Lors d'une activation simultanée des deux systèmes, leurs effets sont synergiques. Or, dans la fibrillation atriale (FA), en particulier sur cœur sain, il a été démontré que les principales anomalies du substrat arythmogène sont : des périodes réfractaires courtes ; une non-adaptation des périodes réfractaires à la fréquence cardiaque ; une dispersion géographique des périodes réfractaires, trois éléments fortement influencés par l'état du système nerveux autonome. Une notion fréquemment utilisée est la balance sympatho-vagale qui définit l'importance fonctionnelle relative des deux branches du SNA à un temps donné. Elle peut être mesurée grâce à l'administration séquentielle d'antagonistes sélectifs des récepteurs cholinergiques et  $\beta$ -adrénergiques (Médigue *et al.* 2001) ou à l'aide d'index tirés de l'analyse de la variabilité sinusale (Camm *et al.* 1996).

## 1.2. Enregistrement électrocardiographique

Comme le corps est électriquement conducteur, les différences de potentiel présentes au niveau de chaque cellule sont susceptibles de se propager dans toutes les directions et peuvent être enregistrées à distance à l'aide d'électrodes. L'ensemble de ces enregistrements forme l'électrocardiogramme (ECG) de surface. Il existe deux modes d'utilisation des électrodes : bipolaire et unipolaire. Le mode bipolaire utilise deux électrodes et mesure la différence de potentiel entre ces deux électrodes. Au contraire, le mode unipolaire mesure la différence de potentiel entre une électrode et un point de référence, qui peut être pris comme une mesure éloignée de la zone d'intérêt, ou une moyenne de plusieurs électrodes. Une valeur mesurée dans l'un ou l'autre de ces modes est appelée

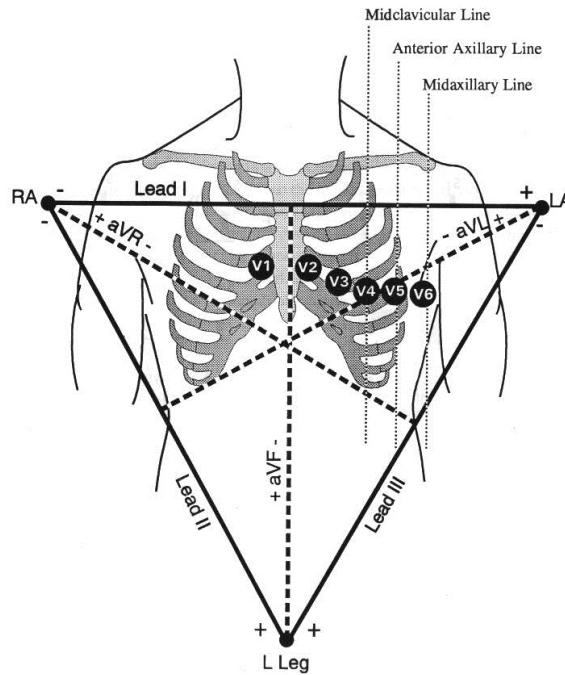


FIGURE 1.4.: Schéma présentant les 12 dérivations classiques d'un ECG humain.

une dérivation de l'ECG.

Chez l'homme, il existe deux principales méthodes d'enregistrement de l'ECG : l'ECG à douze dérivations et le Holter. L'ECG à douze dérivations est constitué de :

- trois dérivations bipolaires (DI, DII et DIII) obtenues en plaçant des électrodes sur le bras gauche, le bras droit et la jambe gauche, et en mesurant la différence entre les trois couples d'électrodes ;
- trois dérivations unipolaires (aVR, aVL et aVF), qui utilisent les mêmes électrodes, mais en mesurant la différence entre une électrode et la moyenne des deux autres ;
- six dérivations unipolaires dites précordiales (V1-V6), placées sur le thorax (Figure 1.4).

Au contraire de l'ECG à douze dérivations qui réclame l'immobilité du patient, le Holter permet un enregistrement ambulatoire de longue durée sur au moins 24 heures. Il est constitué le plus souvent de 5 ou 7 électrodes, permettant d'enregistrer deux ou trois dérivations bipolaires (la dernière électrode servant de point neutre). Les électrodes sont positionnées sur le thorax, avec un emplacement pouvant varier selon la pathologie suspectée chez le patient.

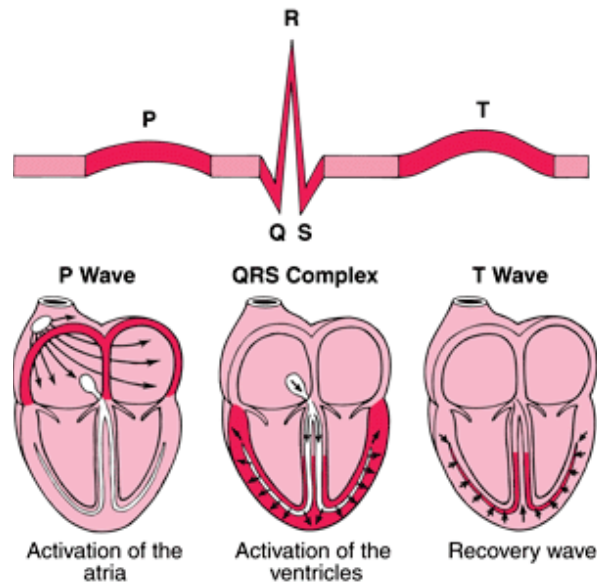


FIGURE 1.5.: Schéma d'un tracé ECG recueilli en DII lors d'un cycle cardiaque.

## 1.3. Interprétation de l'ECG

Lors d'un cycle cardiaque, la dépolarisation et la repolarisation du cœur se traduisent sur un enregistrement ECG par une série d'ondes (Figure 1.5) :

- L'onde P est une onde positive de faible amplitude et arrondie. Elle correspond à la dépolarisation des oreillettes. Il existe un léger retard entre l'oreillette droite, qui se contracte en premier, et l'oreillette gauche. Ce retard n'est normalement pas visible dans l'onde P.
- Le complexe QRS est un ensemble de trois ondes. Il correspond à la dépolarisation des ventricules qui se contractent simultanément. La repolarisation des oreillettes survient pendant cette phase mais est invisible sur l'ECG.
- L'onde T est une onde positive et allongée qui correspond à la repolarisation des ventricules.

En dehors de ces ondes, le signal ECG est normalement plat, et constitue la ligne isoélectrique.

Plusieurs intervalles entre les ondes peuvent être mesurés, ce qui permet de caractériser le cycle cardiaque et de détecter des anomalies :

- L'intervalle PR correspond au délai entre la dépolarisation auriculaire et ventriculaire. Il donne ainsi la mesure du temps de propagation de la dépolarisation entre



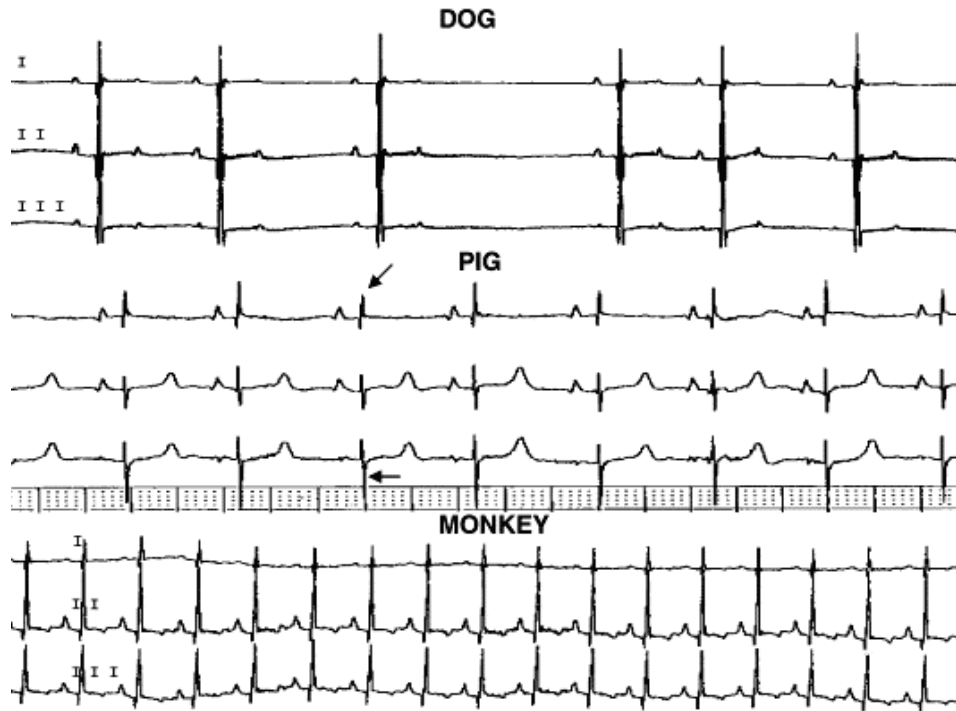


FIGURE 1.6.: Enregistrement ECG en DI, DII et DIII chez un chien, un porc et un singe. Le chien a une arythmie respiratoire sinusale prononcée (allongement de l'intervalle RR pendant l'expiration), le porc a un intervalle QT long et le singe un intervalle RR court, c'est-à-dire une fréquence cardiaque rapide (D'après Hamlin 2005).

les oreillettes et les ventricules.

- L'intervalle QT est mesuré depuis le début du complexe QRS jusqu'à la fin de l'onde T. Il renseigne sur la cinétique de repolarisation ventriculaire.
- L'intervalle RR mesure la période cardiaque.

Ces intervalles varient selon l'espèce animale dans laquelle l'ECG est enregistré. Par exemple, l'intervalle QT chez le porc est très long (Figure 1.6).

Lors d'un enregistrement, des artefacts qui n'ont pas comme origine l'activité électrique cardiaque peuvent apparaître sur le tracé ECG. Ces artefacts peuvent rendre plus difficile la lecture des tracés, et altérer l'efficacité des traitements automatiques. Dans la Figure 1.7, on peut observer une fluctuation de la ligne de base, qui peut être due à un déplacement des électrodes. Cette fluctuation est généralement corrigée avant chaque traitement automatisé des enregistrements. De même, des artefacts ponctuels peuvent induire des variations du signal très importantes et rapides, occultant les ondes du cycle

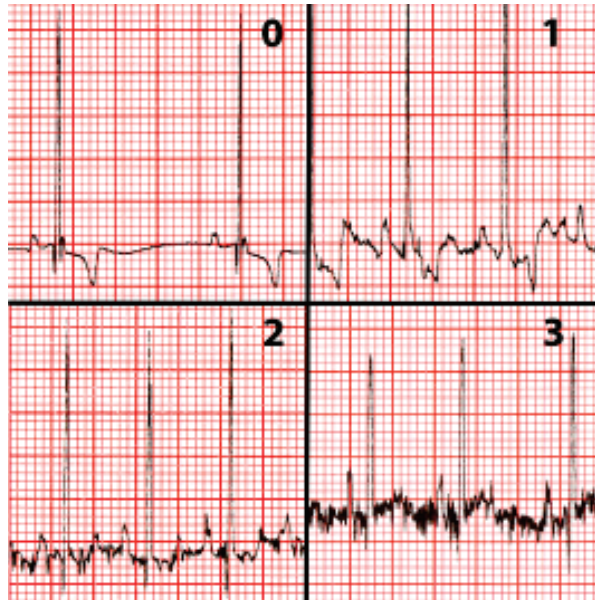


FIGURE 1.7.: Exemples de tracés ECG en DII chez le chien, classés visuellement en quatre niveaux de bruits, en fonction de la présence et de l'amplitude du bruit (D'après Stern *et al.* 2013).

cardiaque. Ces artéfacts sont plus difficiles à séparer des ondes générées par l'activité cardiaque, car ils partagent les mêmes caractéristiques fréquentielles.

### 1.4. Physiopathologie de la fibrillation atriale

La FA est une anomalie du rythme cardiaque qui est caractérisée par des dépolarisations atriales irrégulières et rapides, avec pour conséquence une perte de la systole atriale (Falk 2001). Par conséquent, la contraction des ventricules est elle aussi irrégulière et généralement rapide, tant que le nœud auriculo-ventriculaire conduit l'impulsion électrique.

La FA est l'arythmie cardiaque la plus fréquente, touchant environ 1 % de la population générale et 10 % des personnes de plus de 80 ans (Charlemagne *et al.* 2011). Parmi ses principaux facteurs de risque sont le sexe masculin, l'âge et l'hypertension artérielle (Benjamin *et al.* 1994). Sa complication la plus grave est l'accident vasculaire cérébral dont elle augmente le risque d'un facteur cinq environ (Wolf *et al.* 1991). Elle est associée à une augmentation du risque de mortalité de 1,5 à 1,9 fois, indépendamment des autres facteurs de risque (Benjamin *et al.* 1998).

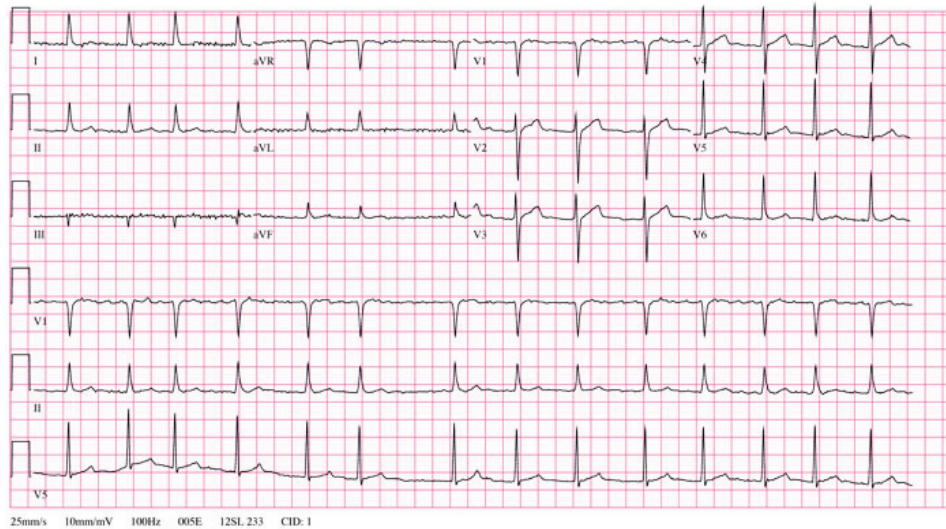


FIGURE 1.8.: Enregistrement ECG 12 dérivations chez un patient présentant une fibrillation atriale.

Différentes formes cliniques de FA sont observées, et sont classées en plusieurs catégories (Camm *et al.* 2010) :

**La FA paroxystique** se termine spontanément en moins de 7 jours, souvent en 48 heures ;

**La FA persistente** dure plus de 7 jours et peut nécessiter une cardioversion (application d'un choc électrique pour restaurer le rythme sinusal) ;

**La FA est dite permanente** lorsque des interventions de contrôle du rythme ne sont plus efficaces.

La FA progresse généralement de courts et rares épisodes à des épisodes plus longs et fréquents. Il a été montré que près de 9 % des patients progressent d'une FA paroxystique à une FA permanente dans l'année qui suit le premier diagnostic, et près de 25 % dans les cinq ans (Kerr *et al.* 2005).

Le diagnostic de FA se fait à partir de l'enregistrement ECG (Figure 1.8). Le tracé ECG d'un patient en FA présente les caractéristiques suivantes :

- Les intervalles RR sont irréguliers et ne suivent pas de motifs répétitifs.
- Il n'y a pas d'ondes P distinctes.

Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer la survenue et la perpétuation de la FA, par exemple des foyers ectopiques, des rotors ou des ondelettes multiples (Eckstein *et al.* 2008, Figure 1.9). Plusieurs mécanismes peuvent coexister chez un même patient.

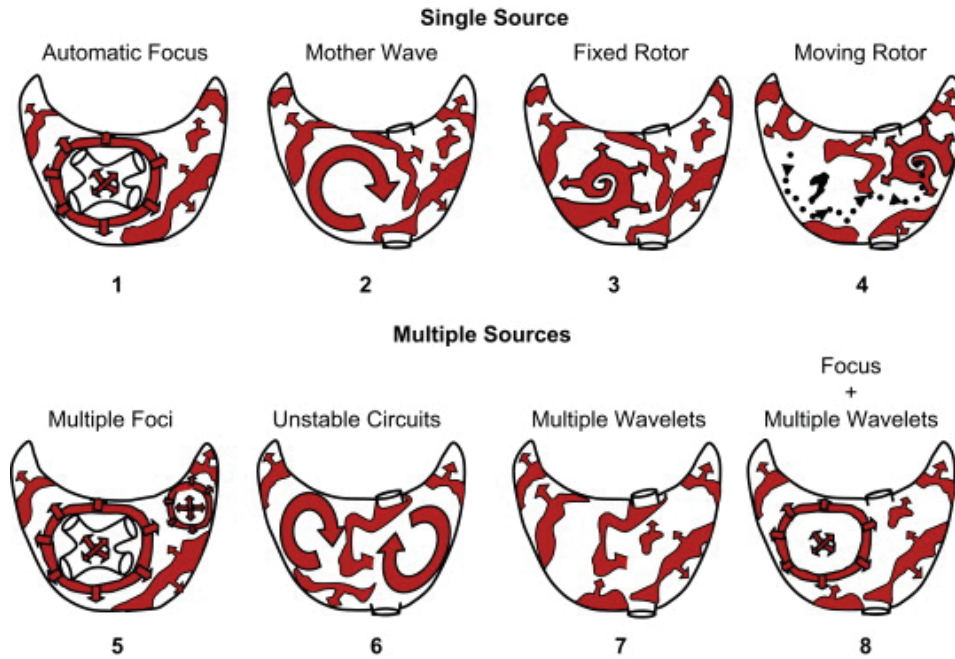


FIGURE 1.9.: Schémas des oreillettes illustrant les différents mécanismes électriques pouvant conduire à la fibrillation atriale (D'après Eckstein *et al.* 2008).

La genèse d'une arythmie cardiaque dépend de trois facteurs qui composent le triangle de Coumel (Farré & Wellens 2004) : un substrat arythmogène, un déclencheur et une modification du milieu. Ces trois facteurs sont associés au déclenchement et à la perpétuation de la FA : des anomalies structurales qui permettent les circuits de réentrée ; des foyers ectopiques principalement autour des veines pulmonaires ; un déséquilibre du système nerveux autonome.

Le principal objectif dans le traitement actuel de la FA est de prévenir les complications sévères, principalement les accidents thromboemboliques. Le score CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc a été proposé pour aider à estimer le risque embolique d'un patient et orienter la décision thérapeutique (Camm *et al.* 2010). Ce score associe un ou deux points à la présence d'un facteur de risque : insuffisance cardiaque, hypertension artérielle, âge, diabète, pathologie vasculaire. Si le score est supérieur à 2, il est recommandé de mettre en place un traitement chronique par un anticoagulant oral. Ensuite, le traitement de la FA fait l'objet de deux stratégies : un contrôle de la fréquence cardiaque ou un contrôle du rythme cardiaque. Il n'a pas été montré qu'une stratégie était supérieure à l'autre en termes d'espérance de vie (Kong *et al.* 2010). Le contrôle de la fréquence cardiaque est obtenu principalement par l'utilisation de beta-bloquants, d'antagonistes calciques ou

de digoxine. Le contrôle du rythme cardiaque peut être obtenu par plusieurs approches. Certains médicaments bloquant les canaux sodiques, potassiques ou calciques ont un effet antiarythmique. Cependant, l'efficacité de ces produits reste modeste, et ils peuvent paradoxalement avoir des effets pro-arythmiques. Le contrôle du rythme peut enfin être obtenu par l'ablation par radio-fréquence des foyers de dépolarisation ectopiques des veines pulmonaires, mais cette méthode souffre d'un taux élevé de réapparition (25 % sur 5 ans dans l'étude de Shah *et al.* (2008)).

## 1.5. Modèles animaux de fibrillation atriale

### 1.5.1. Modèles chez les gros animaux

La première méthode pour obtenir une FA soutenue chez le chien est le pacing (stimulation électrique brève) atrial chronique. Le pacing provoque un remodelage électrique de l'oreillette qui se traduit en particulier par un raccourcissement de la période réfractaire, et ce, de manière hétérogène. Ce remodelage augmente la vulnérabilité à l'induction de la FA et sa perpétuation (Wijffels *et al.* 1995). Ce pacing provoque l'apparition d'épisodes de FA paroxystique spontanés. Dans l'étude de Choi *et al.* (2010), l'ECG et les activités nerveuses cardiaques intrinsèques et extrinsèques (ortho et parasympathiques) ont été mesurés chez 6 chiens ayant subi un pacing atrial 6 jours par semaine. Lors du septième jour, les épisodes spontanés de FA paroxystique étaient précédés dans 89 % des cas par une activation nerveuse cardiaque intrinsèque seule ou associée à une co-activation du SNA. Cette co-activation sympatho-vagale paraît être impliquée dans la perpétuation de la FA, c'est-à-dire dans la FA persistante (Shen *et al.* 2012).

L'insuffisance cardiaque, une des causes cliniques de FA, a été reproduite chez le chien et le mouton (Li *et al.* 1999 ; Tanaka *et al.* 2007). Dans ces modèles, l'insuffisance cardiaque est induite par un pacing du ventricule droit pendant plusieurs semaines. La période réfractaire atriale est inchangée dans ces modèles, mais l'insuffisance cardiaque induit de la fibrose qui crée des zones de conduction lente et stabilise les circuits de réentrée arythmogènes.

### 1.5.2. Modèles muridés

Les arythmies impliquant des circuits de réentrée sont généralement considérées comme restreintes aux gros animaux, car ces circuits nécessitent une masse cardiaque minimale. En conséquence, il est généralement admis que la FA est impossible chez le rat et la



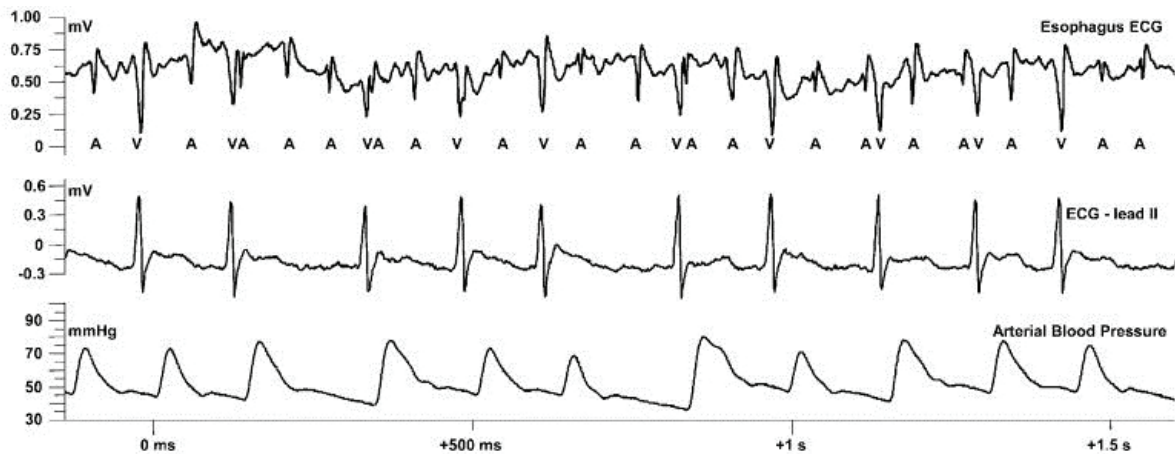


FIGURE 1.10.: Enregistrements d'ECG recueilli par voie transœsophagienne, de l'ECG de surface et de la pression artérielle chez un rat anesthésié, après stimulation électrique brève au cours d'une asphyxie. (A) Complexe atrial; (V) complexe ventriculaire (D'après Haugan *et al.* 2004).

souris. Cependant, des modèles de tachyarythmie atriale ont été développés dans ces deux espèces.

#### 1.5.2.1. Chez le rat

Chez le rat anesthésié, le pacing transœsophagien permet d'induire des épisodes de FA au cours d'une asphyxie aiguë (Haugan *et al.* 2004), peut-être en relation avec une augmentation de l'activité sympathique (Figure 1.10).

Ono *et al.* (2007) ont rapporté la survenue spontanée d'épisodes de FA du cœur isolé de rat au cours d'un stress métabolique (inhibition de la glycolyse). Ce stress augmente le calcium libre intracellulaire, ce qui provoque des post-dépolarisations précoces au niveau des jonctions veino-atriales. Dans cette étude, seuls les cœurs des rats âgés (rats Fisher normotendus de 27-29 mois), qui présentent une fibrose interstitielle au niveau de la jonction veino-atriale gauche, font spontanément des épisodes de FA au cours du stress métabolique.

Dans l'étude de Xu *et al.* (2010), après pacing atrial de 30 secondes chez l'animal anesthésié, les rats Wistar adultes de 9 mois présentent des épisodes de FA trois fois plus long que les jeunes rats de 3 mois. De plus, les rats adultes présentent une plus grande fibrose interstitielle atriale que les jeunes rats.

Une plus grande susceptibilité aux arythmies atriales a aussi été rapportée sur des

cœurs isolés perfusés de rats spontanément hypertendus (SHR) âgés par rapport aux cœurs de jeunes rats SHR et par rapport à leurs contrôles normotendus du même âge (Choisy *et al.* 2007). Les rats SHR âgés développent un substrat arythmogène avec une fibrose de l'oreillette gauche sans modification de la période réfractaire. Les mêmes auteurs rapportent des résultats similaires sur un modèle d'augmentation de la post-charge ventriculaire par sténose aortique sans hypertension systémique (Kim *et al.* 2011). Là encore, le développement progressif d'une fibrose interstitielle atriale et d'anomalies de conduction sont des facteurs de susceptibilité à la FA.

Une étude récente sur du tissu atrial prélevé chez des vieux rats SHR (15 mois d'âge) a confirmé une augmentation de la susceptibilité aux arythmies par rapport à leurs contrôles normotendus du même âge (Lau *et al.* 2013). Ces préparations présentent de plus de la fibrose interstitielle ainsi que des infiltrations macrophagiques, ce remodelage participant à créer un substrat arythmogène. Ce remodelage a été retrouvé dans l'oreillette gauche de vieux rats SHR de 11 mois d'âge (Scridon *et al.* 2013).

Enfin, l'exercice a aussi un effet sur la susceptibilité à la FA. Après pacing atrial, un plus grand nombre d'épisodes de FA a été induit dans un groupe de rats Wistar ayant subi 16 semaines d'entraînement physique par rapport à un groupe de rats sédentaires (Guasch *et al.* 2013). De plus, dans le groupe entraîné, l'injection intra-péritonéale d'atropine permet d'interrompre les épisodes de FA, suggérant une implication de l'hypertonie vagale secondaire à l'entraînement physique.

En résumé, ces études indiquent que le vieillissement et l'hypertension artérielle augmentent la susceptibilité à la FA chez le rat. De plus, la dernière étude est en faveur d'une possible implication d'une hyperactivité parasympathique, au moins dans un modèle d'entraînement physique qui reproduit ce qui a pu être observé chez certains sportifs (Wilhelm 2013).

### 1.5.2.2. Chez la souris

Quelques études ont été réalisées dans des modèles transgéniques de souris. Chez la souris invalidée pour le gène de la connexine Cx40 (impliquée dans la dépolarisation coordonnée des cardiomyocytes), des arythmies atriales ont pu être provoquées chez 63 % des animaux par pacing transœsophagien (Hagendorff *et al.* 1999). De même, des souris surexprimant l'enzyme de conversion de l'angiotensine sélectivement au niveau cardiaque font des arythmies atriales, notamment de la FA, de manière spontanée à l'état vigile (Xiao *et al.* 2004, Figure 1.11).

Un autre modèle de FA spontanée a été décrit dans l'étude de Zhang *et al.* (2008)

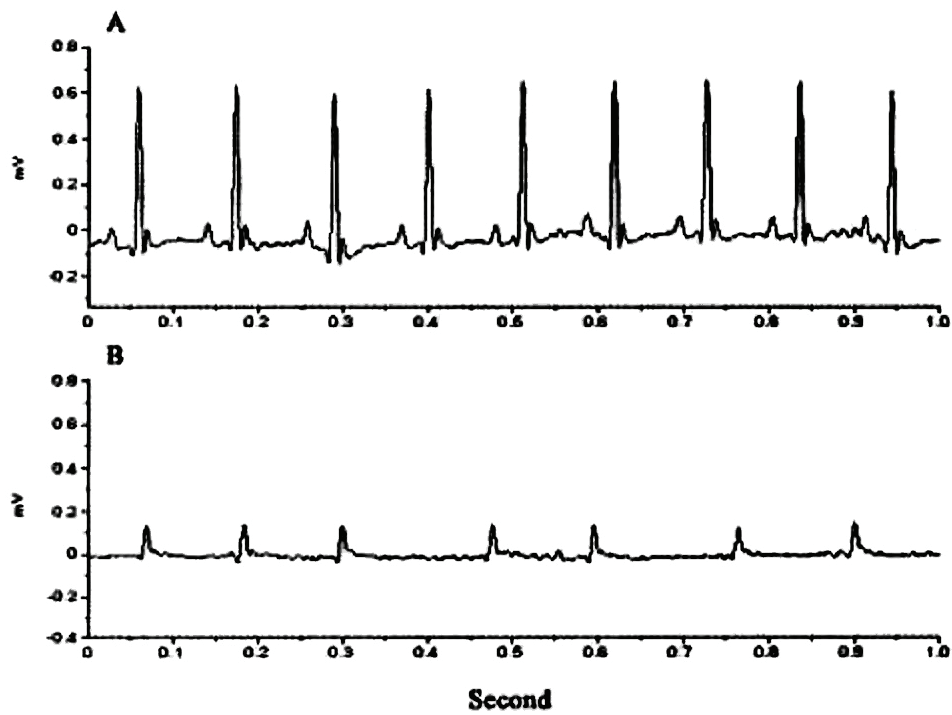


FIGURE 1.11.: Enregistrements ECG télémétriques obtenus chez deux souris éveillées, soit contrôle (A), soit surexprimant l'enzyme de conversion de l'angiotensine dans le cœur (B). Le deuxième enregistrement montre des complexes QRS de faible amplitude, aucune onde P visible et des intervalles RR irréguliers (D'après Xiao *et al.* 2004).



chez des souris avec invalidation hétérozygote du gène NUP155. Ce gène code pour une protéine intervenant dans la constitution des pores nucléaires. Les auteurs rapportent que ces épisodes spontanés, observés chez des souris éveillées, peuvent durer plus de 10 minutes.

## 2. Détection automatique de la FA

### 2.1. Chez l'homme

Chez l'homme, de nombreuses méthodes de détection automatique des arythmies atriales, et en particulier la FA, ont été développées. Ces méthodes ont surtout été appliquées à des enregistrements Holter, dont la durée ne permet pas une analyse visuelle exhaustive en routine.

Lors d'une FA, le signal ECG présente deux caractéristiques principales qui sont à la base de deux catégories de méthodes :

- le rythme ventriculaire est rapide et irrégulier, ce qui permet de développer des méthodes fondées sur l'analyse de l'intervalle RR ;
- l'activité atriale est désordonnée, ce qui permet de développer des méthodes fondées sur l'analyse de la forme des ondes.

La grande majorité des méthodes comprend quatre étapes :

1. le prétraitement du signal ECG ;
2. le calcul d'un ensemble de paramètres ;
3. la réduction de l'ensemble des paramètres ;
4. la classification à l'aide de l'ensemble des paramètres.

#### 2.1.1. Structure

##### 2.1.1.1. Prétraitement

Avant la détection proprement dite des arythmies, le signal ECG subit une série de traitements qui visent à rendre possible ou à améliorer l'identification des arythmies.

Une première catégorie de traitements, qui n'est pas propre à la détection d'arythmies, consiste à réduire les différentes sources de bruit. Un signal ECG peut présenter une fluctuation de la ligne de base, une interférence avec l'électromyogramme ou des artefacts de mouvement. La méthode la plus simple de réduction de ces bruits consiste en un

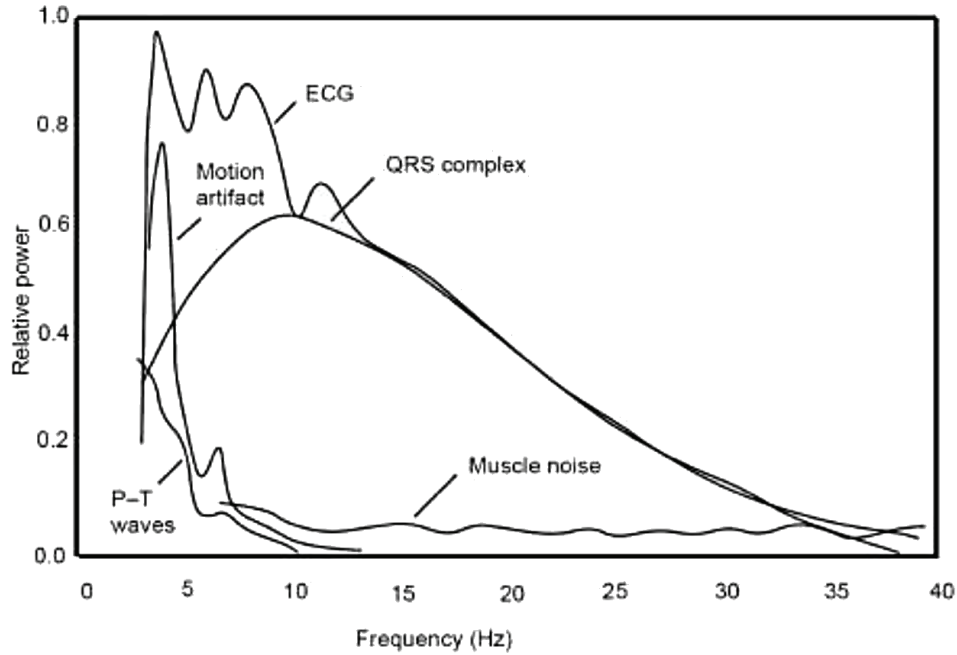


FIGURE 2.1.: Densité spectrale de puissance du signal ECG, des complexes QRS, des ondes P et T et de plusieurs sources de bruit, après moyennage sur 150 battements (D'après Tompkins 1993).

filtrage dans une certaine bande de fréquences (Aytemir *et al.* 1999 ; Asl *et al.* 2008 ; Yaghoubi *et al.* 2010). Toutefois, cette méthode n'élimine que partiellement les différentes sources de bruit, car certaines composantes fréquentielles du bruit sont communes avec le signal ECG (Figure 2.1, Tompkins 1993). D'autres méthodes plus complexes comme des filtres qui s'adaptent au signal ou la transformée en ondelettes (Thakor & Zhu 1991 ; Afonso *et al.* 1996 ; Kara & Okandan 2007 ; Blanco-Velasco *et al.* 2008 ; Kim *et al.* 2009) permettent d'améliorer la réduction des bruits.

Pour les méthodes se fondant sur l'analyse de l'intervalle RR, il est nécessaire dans un deuxième temps de détecter les ondes R. De nombreuses méthodes existent pour effectuer cette détection (Kohler *et al.* 2002). Une des méthodes les plus utilisées est la méthode de Pan & Tompkins (1985). Cette méthode consiste à transformer le signal brut en un signal qui met en avant les complexes QRS. La transformation du signal est constituée de 4 étapes :

1. filtrage passe-bande (5-11 Hz), pour atténuer les fluctuations du signal ;
2. calcul de la dérivée, pour mettre en valeur les complexes QRS qui ont une variation rapide ;

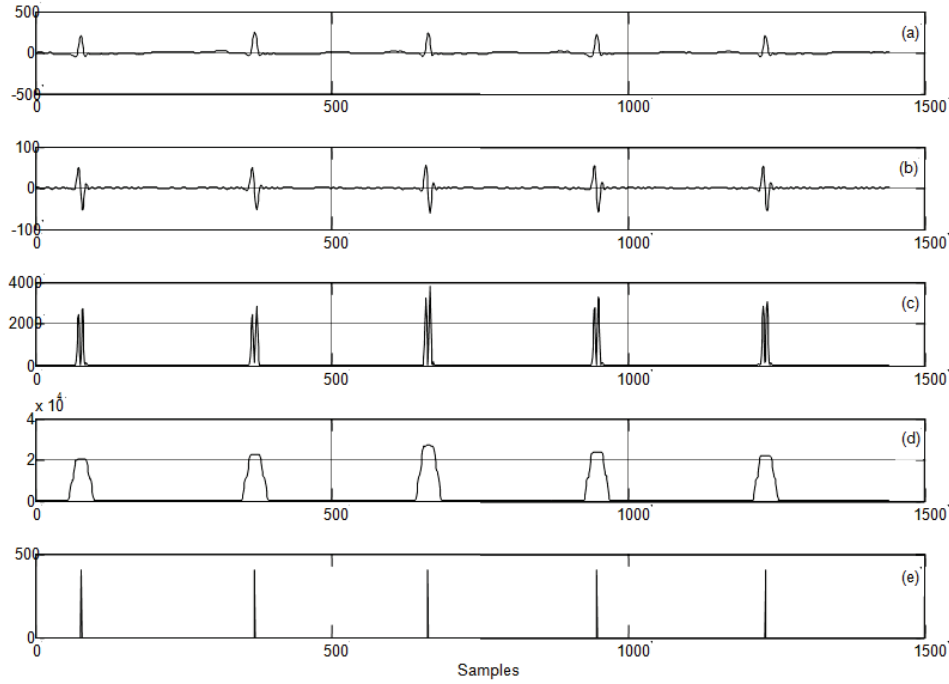


FIGURE 2.2.: Différentes étapes de l'algorithme de détection des QRS. (a) Signal après filtrage passe-bande. (b) Dérivée du signal. (c) Carré du signal dérivé. (d) Résultat de l'intégration fenêtrée. (e) Emplacement des complexes détectés (D'après Fazel-Rezai *et al.* 2011).

3. mise au carré, pour obtenir un signal positif ;
4. intégration par fenêtre mobile (150 ms), pour lisser le signal et obtenir un pic unique par complexe QRS.

A partir du signal transformé, les maximums sont détectés, ce qui donne la localisation des complexes QRS. La dernière étape consiste à détecter les ondes R sur le signal original comme les maximums à l'intérieur des complexes QRS (Figure 2.2).

### 2.1.1.2. Extraction des paramètres

Après traitement du signal, plusieurs paramètres sont calculés qui sont susceptibles de prendre des valeurs différentes en fonction de la présence ou de l'absence d'arythmies.

Une première famille de paramètres est dérivée de l'intervalle RR. La série temporelle constituée des intervalles RR successifs est caractérisée lors d'un épisode de FA par une grande irrégularité, qui peut être estimée à l'aide de différents indices. On retrouve les indices communs utilisés pour l'analyse de la variabilité sinusale tels que le SDNN (écart-

type des intervalles RR entre battements sinusaux), le RMSSD (racine de la moyenne des carrés des écarts successifs d'intervalles RR) ou la puissance spectrale dans certaines bandes de fréquences (Asl *et al.* 2008 ; Yaghoubi *et al.* 2010). D'autres indices, non linéaires, sont aussi utilisés comme l'entropie (Staniczenko *et al.* 2009 ; Lake & Moorman 2011 ; Langley *et al.* 2012), l'exposant de Lyapunov ou les indices dérivés du tracé de Poincaré (Asl *et al.* 2008, Figure 2.3).

La deuxième famille de paramètres quantifie la forme du tracé ECG. Une des analyses de forme la plus utilisée est la transformée en ondelettes. Celle-ci permet d'exprimer la forme du tracé par un ensemble restreint d'indices, donnant les caractéristiques du signal à différentes échelles de temps (Al-Fahoum & Howitt 1999 ; Übeyli 2007, Figure 2.4).

### 2.1.1.3. Réduction de l'ensemble des paramètres

Certaines méthodes fournissent un grand nombre de paramètres. Parmi ces paramètres, tous n'ont pas une égale importance. En effet, certains paramètres peuvent être redondants, d'autres peuvent avoir une faible puissance discriminative. Le fait d'avoir un très grand nombre de paramètres est néfaste pour l'étape de classification, car cela augmente la complexité du modèle et en diminue l'efficacité. C'est pourquoi il est important de diminuer le nombre des paramètres.

Une méthode classique de réduction du nombre de paramètres est l'analyse en composantes principales (Pearson 1901). Cette méthode géométrique permet de transformer un grand nombre de paramètres initiaux en un faible nombre de nouveaux paramètres appelés les composantes principales. Ces composantes principales ont deux caractéristiques : elles sont à la fois décorrélées les unes des autres, et elles conservent la plus grande partie de la variabilité des paramètres initiaux.

La première composante principale est définie par la direction de dispersion maximale des valeurs, et chaque composante principale successive est définie par la direction de dispersion maximale restante (non expliquée par les composantes précédentes) (Figure 2.5).

### 2.1.1.4. Classification

Les valeurs des paramètres sont ensuite utilisées pour qualifier le tracé ECG comme présentant une arythmie ou non. Les algorithmes de classification d'arythmies font généralement l'objet d'une phase d'apprentissage. L'algorithme est entraîné dans un premier temps sur des tracés dont la nature de l'arythmie est connue, afin d'en déterminer les ca-

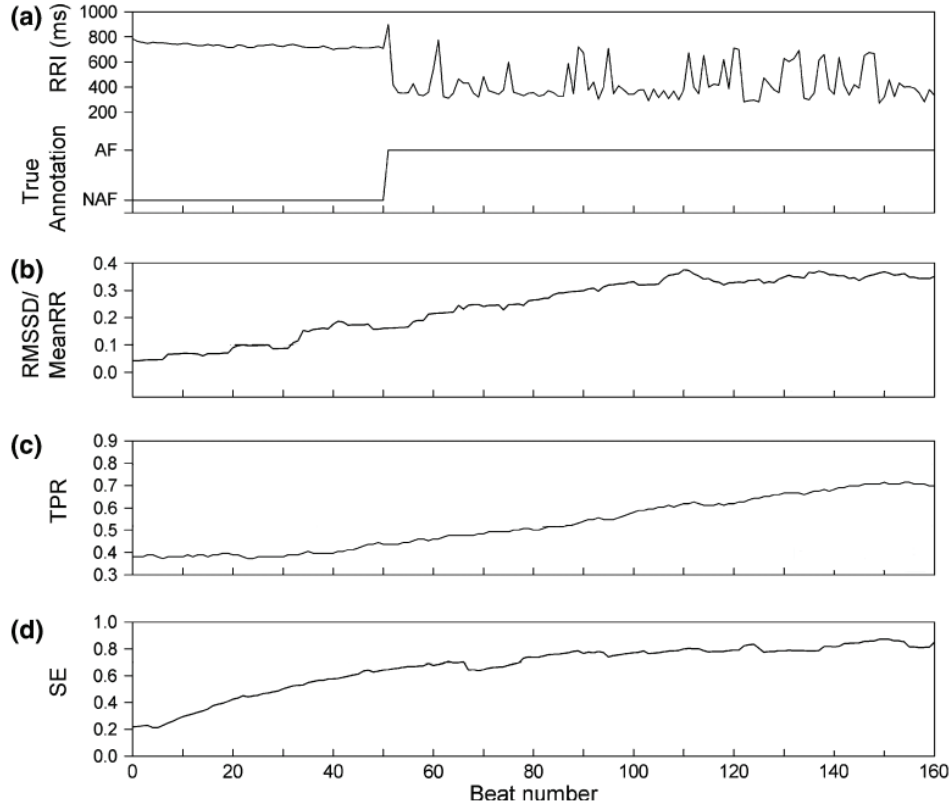


FIGURE 2.3.: (a) Série temporelle d'intervalles RR et annotations provenant de la base de données MIT BIH Atrial Fibrillation (base publique contenant des enregistrements ECG Holter avec des épisodes de fibrillation atriale). AF/NAF : présence/absence de fibrillation atriale. En dessous, calcul de trois indices dérivés des séries d'intervalles RR : (b) le rapport RMSSD sur la moyenne des intervalles RR, (c) un indice donnant la proportion de séquences d'intervalles RR de type court-long-court ou long-court-long (Turning Point Ratio) et (d) une estimation de l'entropie (Sample Entropy) (d'après Dash *et al.* 2009).

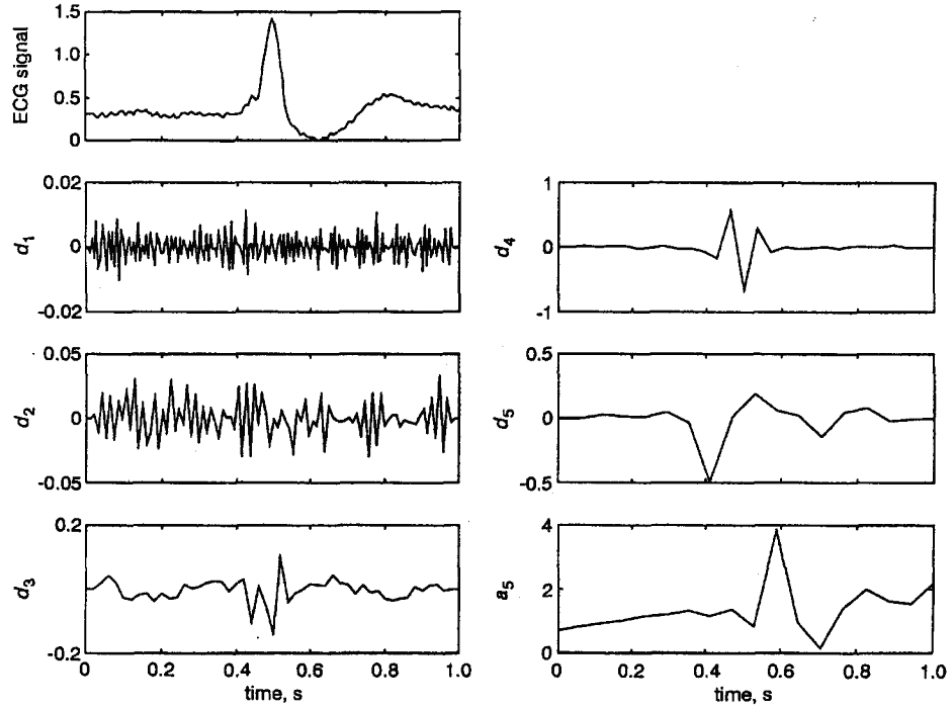


FIGURE 2.4.: Un tracé ECG de fibrillation atriale, avec sa décomposition en ondelettes discrètes utilisant l'ondelette Daubechies 4 (Mallat 1999). Les cinq premières composantes de la décomposition ( $d_1$ - $d_5$ ) sont illustrées, ainsi que le reste du signal ( $a_5$ ) (D'après Al-Fahoum & Howitt 1999).

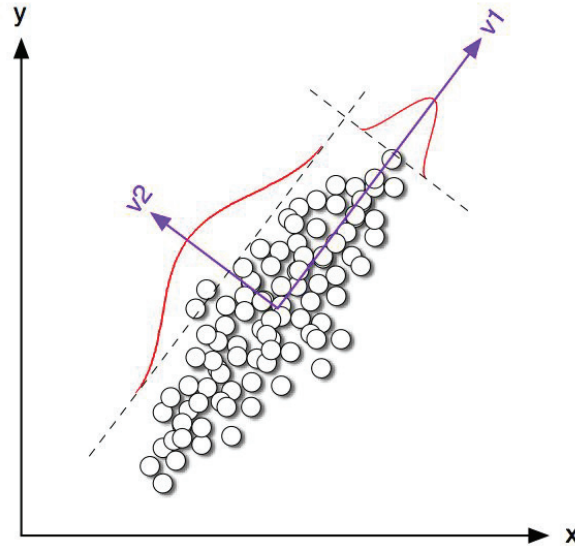


FIGURE 2.5.: Analyse en composantes principales sur deux facteurs  $x$  et  $y$ . La première composante ( $v_1$ ) est définie par la direction de dispersion maximale des points, et la deuxième composante ( $v_2$ ), orthogonale à la première, explique le reste de la dispersion (D'après Jehan 2005).

ractéristiques. Ensuite, l'algorithme est appliqué sur des tracés ECG de nature inconnue pour les classer.

Un exemple d'algorithme de classification est la machine à vecteurs de support (Übeyli 2007 ; Asl *et al.* 2008 ; Jovic & Bogunovic 2012). Cette méthode est fondée sur une représentation géométrique de l'ensemble des paramètres. Les valeurs des paramètres représentent les coordonnées d'un point dans un espace. Lors de la phase d'apprentissage, on obtient deux groupes de points, selon que le tracé ECG correspondant présente une arythmie ou non. Si le choix des paramètres est judicieux, les deux groupes de points sont séparés dans l'espace. Dans la version simple de l'algorithme, il est supposé que les groupes de points de chaque catégorie sont linéairement séparables (par une droite dans un espace à deux dimensions, par un plan dans un espace à trois dimensions, etc.). L'algorithme détermine alors la meilleure frontière entre les deux groupes de points, c'est-à-dire celle dont la marge est maximale (Figure 2.6). La marge est définie comme la zone autour de la frontière qui ne contient aucun point. Lors de la phase de classification, cette frontière est utilisée pour classer les points dans l'une ou l'autre des catégories.

En pratique, les groupes de points sont rarement linéairement séparables. Pour pouvoir séparer les groupes, les points sont projetés dans un nouvel espace de plus grande



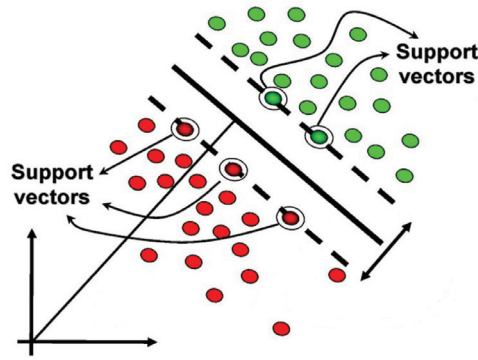


FIGURE 2.6.: Graphe représentant deux groupes selon les valeurs de deux paramètres. La frontière déterminée par l'algorithme de machine à vecteurs de support est la frontière séparant les deux groupes, telle que la marge possède une largeur maximale. Les points situés au bord de la marge sont appelés les vecteurs de support (D'après Winters-Hilt & Merat 2007).

dimension, où les groupes de points sont plus susceptibles d'être linéairement séparables (Figure 2.7).

Un exemple de l'utilisation de cette méthode est fourni par l'étude de Park *et al.* (2009). Cette étude utilise deux indices dérivés du tracé de Poincaré : la distance moyenne entre deux points consécutifs du tracé, et la dispersion des points autour de la diagonale. La machine à vecteurs de support est ensuite utilisée sur ces deux indices pour détecter les tracés ECG contenant des épisodes de FA.

### 2.1.2. Performances

Après avoir mis au point un algorithme de détection d'arythmies, il est nécessaire d'évaluer sa performance. Pour cela, les résultats de l'algorithme sont comparés avec le diagnostic d'un spécialiste. Cela requiert d'avoir des tracés ECG annotés, en nombre suffisant pour pouvoir estimer correctement la performance de l'algorithme.

La solution majoritairement utilisée consiste à se servir de bases de données en libre accès, et en particulier la banque PhysioBank (Goldberger *et al.* 2000). Cette banque contient des bases de données d'enregistrements de signaux physiologiques chez des patients sains ou atteints de diverses pathologies. La base de données MIT-BIH Atrial Fibrillation Database est particulièrement utilisée. Elle contient 23 enregistrements Holter de 10 heures présentant des épisodes de FA paroxystique, et incluant les annotations des différentes arythmies. L'avantage d'utiliser une base de données centrale est que les

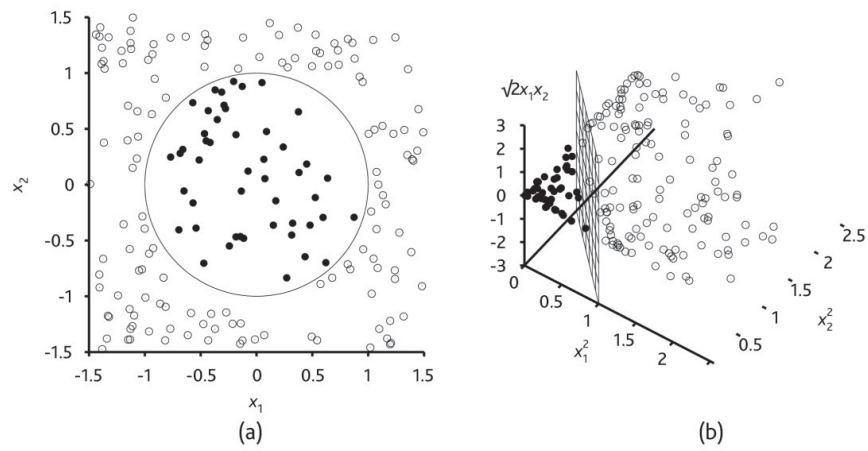


FIGURE 2.7.: Graphes représentant deux groupes selon (a) les valeurs de deux paramètres et (b) une combinaison des deux paramètres. Dans le premier graphe, les deux groupes ne sont pas linéairement séparables. Dans le deuxième graphe, après une recombinaison des paramètres, les deux groupes sont linéairement séparables (D'après Verplancke *et al.* 2008).

résultats de différents algorithmes peuvent être comparés entre eux (Yaghoubi *et al.* 2010 ; Jovic & Bogunovic 2012). Cependant, plusieurs études sont en désaccord avec certaines annotations présentes dans ces bases de données (Tateno & Glass 2000 ; Staniczenko *et al.* 2009).

La quantification de la performance d'un algorithme se fait dans un premier temps par le décompte des bonnes et mauvaises détections. Sont décomptés le nombre de cas arythmiques détectés comme arythmiques (VP, vrais positifs), le nombre de cas arythmiques détectés comme non arythmiques (FN, faux négatifs), le nombre de cas non arythmiques détectés comme arythmiques (FP, faux positifs) et le nombre de cas non arythmiques détectés comme non arythmiques (VN, vrais négatifs). À partir de ces quatre valeurs, les indices de sensibilité ( $VP/(VP+FN)$ ), de spécificité ( $VN/(VN+FP)$ ) ou de valeur prédictive positive ( $VP/(VP+FP)$ ) sont généralement calculés pour apprécier la performance de l'algorithme. La sensibilité peut être interprétée comme la probabilité de détecter une arythmie lorsqu'elle est présente, la spécificité comme la probabilité de détecter un rythme sinusal lorsqu'il est présent et la valeur prédictive positive comme la probabilité qu'une arythmie détectée soit correcte.

Si l'on souhaite diagnostiquer la présence de FA sur un tracé ECG, les indices de sensibilité et de spécificité sont principalement utilisés. En revanche, si l'on s'intéresse à détecter un épisode de FA sur chaque battement ou sur un intervalle de temps donné, la spécificité est souvent remplacée par la valeur prédictive positive. En effet, cette valeur permet de mieux caractériser la détection de l'arythmie. Toutefois, au contraire des deux premiers indices, la valeur prédictive positive dépend de la prévalence de l'arythmie (Koeppel *et al.* 2012). On ne peut donc pas comparer les valeurs prises par cet indice lorsque différentes bases de données sont utilisées.

## 2.2. Chez l'animal

Dans une première catégorie d'études, les arythmies sont détectées visuellement. C'est le cas dans les études où la période d'analyse est courte, comme après un entraînement atrial (Haugan *et al.* 2004) ou la ligature d'une artère coronaire (Baltogiannis *et al.* 2005). D'autres études, lorsque la période d'analyse est plus longue, segmentent les enregistrements et analysent uniquement certains segments (Nadziejko *et al.* 2004 ; Koeppel *et al.* 2012). La détection des ondes R et le calcul des intervalles RR peuvent aider à la détection, notamment grâce à l'utilisation de seuils. Par exemple, dans l'étude de Opitz *et al.* (1995), les arythmies sont recherchées visuellement lorsque l'intervalle RR (converti

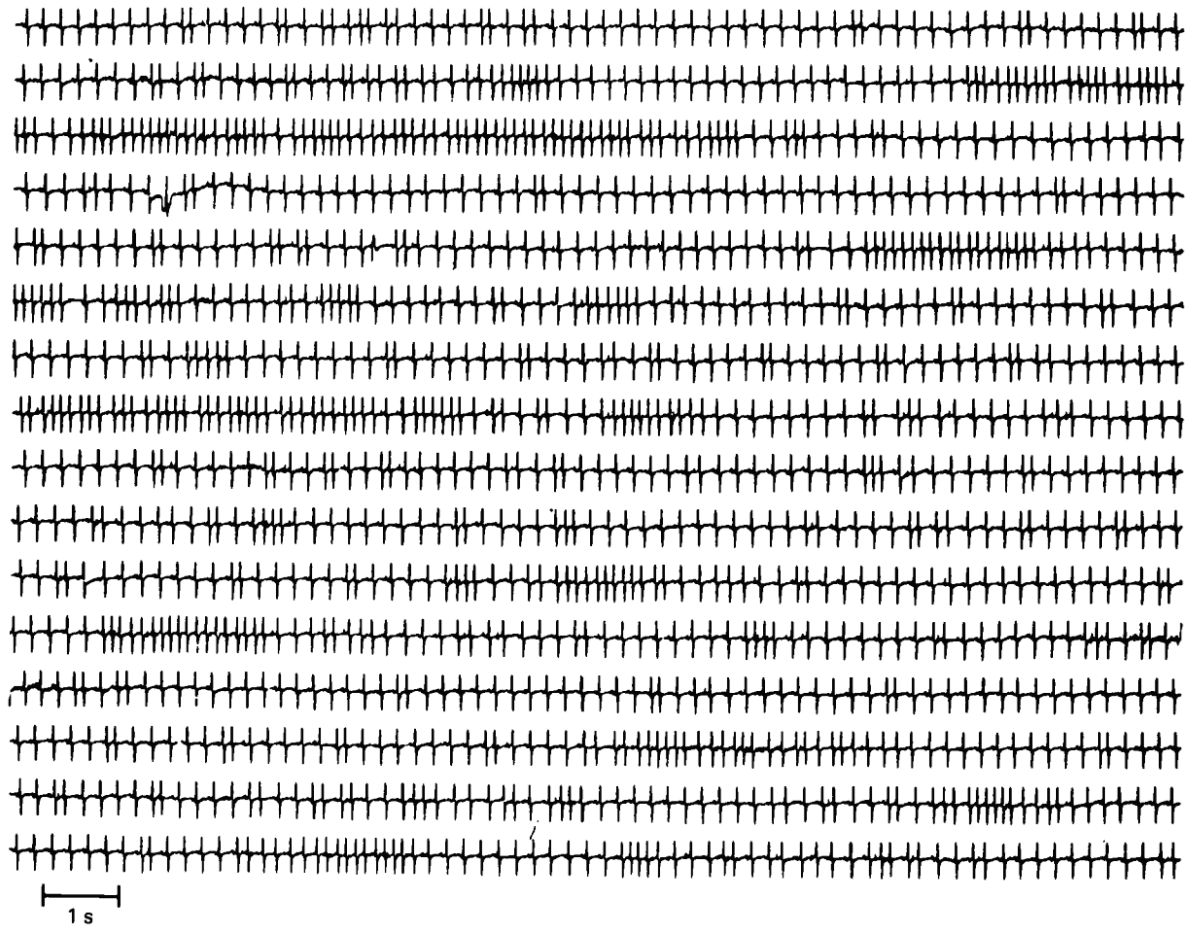


FIGURE 2.8.: Tracé ECG chez un rat sénéscent (22 mois), montrant un grand nombre d'extrasystoles supraventriculaires (D'après Carré *et al.* 1992).

en fréquence cardiaque) sort de l'intervalle 300-500 bpm. L'analyse visuelle montre ses limites dans l'étude de Carré *et al.* (1992), où le trop grand nombre d'arythmies supraventriculaires empêche un comptage exhaustif (Figure 2.8).

Dans le cas d'enregistrements télémétriques de longue durée, plusieurs études utilisent des logiciels commerciaux pour la détection d'arythmies (Boixel *et al.* 2003 ; Milliez *et al.* 2005 ; Anselme *et al.* 2007 ; Farraj *et al.* 2009 ; Lyon *et al.* 2011). Au moins trois logiciels proposent l'analyse de tracés ECG chez le rat : LabChart avec le module ECG Analysis (ADInstruments), ecgAUTO (emka TECHNOLOGIES) et ARR30a (NOTOCORD) (Figures 2.9-2.10). Le logiciel de NOTOCORD a permis de réaliser une étude qui analyse des tracés ECG dans cinq espèces (primate, chien, porc, cobaye et rat) (Koeppel *et al.* 2012). L'étude compare l'analyse visuelle avec la détection automatique fournie

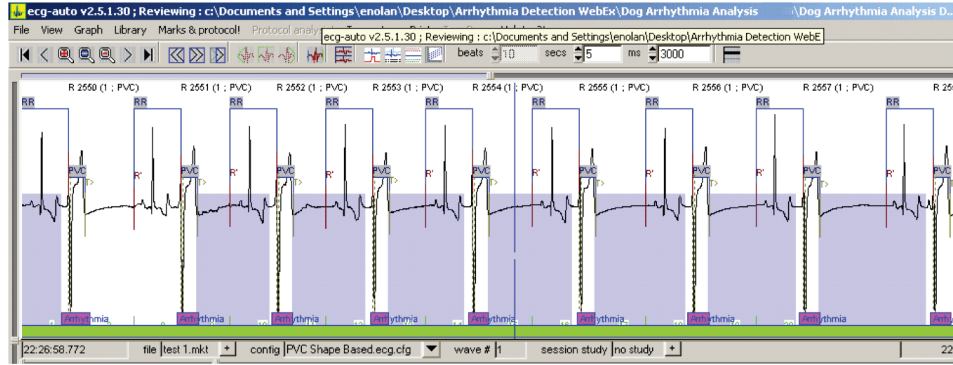


FIGURE 2.9.: Capture d'écran du logiciel ecgAUTO (emka TECHNOLOGIES) traitant un enregistrement ECG chez le chien.

par le logiciel, qui permet de détecter cinq types d'arythmies. Cette étude rapporte une plus grande difficulté à traiter les tracés ECG de rat par rapport à ceux des autres espèces, notamment du fait de la faible amplitude des ondes P. De même, la majorité des arythmies présentes sont des arythmies ventriculaires, seuls 40 battements ectopiques d'origine atriale sont présents dans les enregistrements analysés. Pour ces trois logiciels du commerce, la méthode utilisée pour la détection des arythmies n'est pas décrite précisément. Il est juste indiqué que les logiciels utilisent à la fois la reconnaissance de la forme des ondes et la variation des intervalles RR pour classer les tracés. Une seule étude a comparé l'analyse ECG des logiciels de ces trois sociétés (Chui & Vargas 2009), chez le chien, mais cette étude n'inclut pas la détection d'arythmies.

Les études décrivant un algorithme personnalisé entièrement automatisé de détection des arythmies sont très rares. L'équipe de Sgoifo *et al.* (1994, 1997) a développé une méthode fondée sur les variations de l'intervalle RR chez le rat, mais sans décrire cette méthode. De même, l'équipe de London *et al.* (2003) a développé un algorithme de détection après avoir analysé des tracés ECG recueillis chez la souris, toujours sans décrire la méthode.

Chez le chien, une méthode de détection fondée sur la forme des ondes est décrite (Sugiura *et al.* 1998), mais elle concerne uniquement les arythmies ventriculaires.

Chez le rat, une étude rapporte une application de la dynamique symbolique à la détection des arythmies (Letellier *et al.* 2004). Les intervalles RR sont classés dans trois groupes, chaque groupe étant représenté par un symbole : RR court = 0, RR normal = 1, RR long = 2. La série des intervalles RR successifs est alors convertie en une suite de symboles. Une extrasystole étant caractérisée par un intervalle RR court suivi

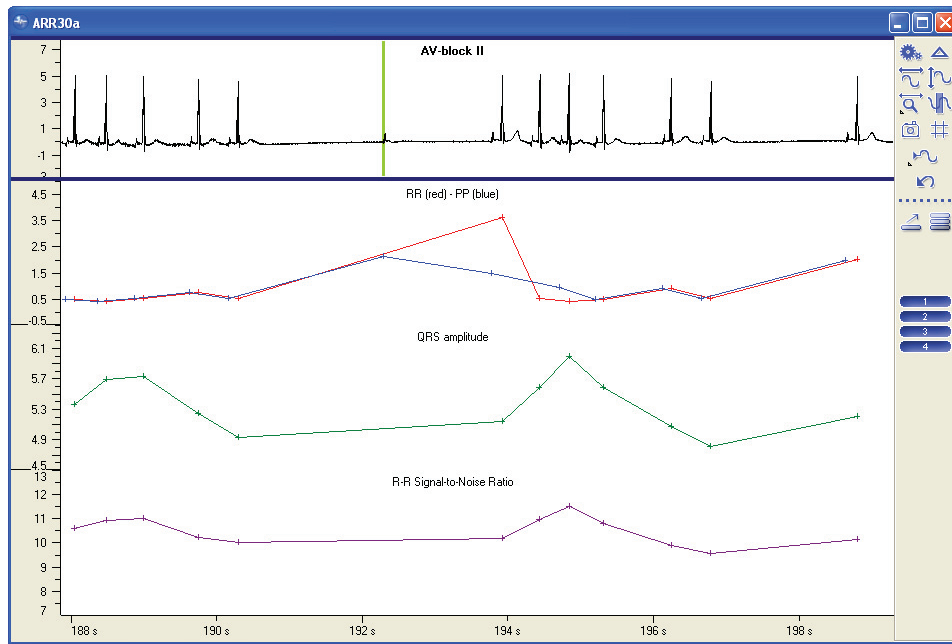


FIGURE 2.10.: Capture d'écran du logiciel ARR30a (NOTOCORD).

d'un intervalle RR long, la séquence de symboles correspondante est ...11102111.... Les extrasystoles d'origine atriale ou ventriculaire ne sont pas distinguées par cette méthode.

En considérant les séquences ayant une longueur de 5 symboles, il existe 243 combinaisons possibles. En comptant le nombre d'occurrences de chaque séquence, on obtient une répartition permettant de visualiser la présence d'arythmies (Figure 2.11).

Cette méthode permet de montrer le profil arythmique global d'un tracé ECG, mais ne permet pas de détecter individuellement chaque arythmie. De plus, le choix des bornes pour classer les intervalles RR n'est pas explicité.

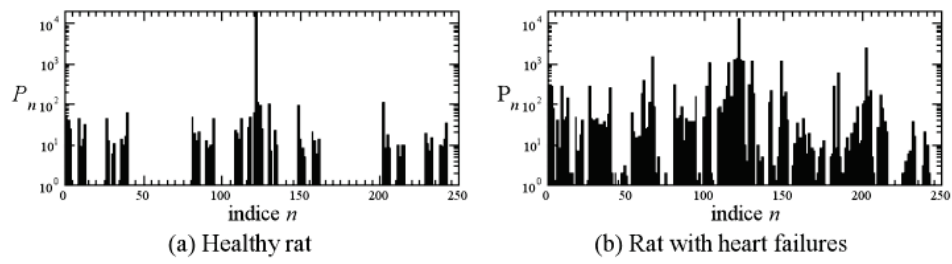


FIGURE 2.11.: Nombre d'occurrences ( $P_n$ ) de chaque séquence de cinq symboles chez un rat contrôle et un rat atteint d'une insuffisance cardiaque.  $n$  est le numéro de la séquence de cinq symboles (D'après Letellier *et al.* 2004).

**Deuxième partie .**

**Travail personnel**



## 3. Matériel et méthodes

### 3.1. Animaux

Des rats mâles spontanément hypertendus de souche SHR et normotendus de souche Wistar-Kyoto (WKY) (Élevage Janvier, Le Genest-Saint-Isle, France) ont été utilisés. Ils étaient stabulés dans des conditions constantes de température (21-22 °C) et d'éclairage (7h à 19h) et recevaient de l'eau de ville et une nourriture standard *ad libitum*.

### 3.2. Procédures

#### 3.2.1. Enregistrement de l'électrocardiogramme

Des sondes télémétriques pour la mesure de l'ECG (modèle TA11 CA-F40; Data Sciences International, St. Paul, MN, USA) ont été implantées sous anesthésie à l'isoflurane (2,5 % dans l'oxygène). Le corps de la sonde était placé dans une poche sous-cutanée en position dorsale, et les deux électrodes étaient fixées en position DII (Figure 3.1). Les animaux étaient ensuite laissés en récupération pendant une semaine.

L'enregistrement en continu de l'ECG a été réalisé chez les rats vigils. La capture du signal était accomplie avec des receveurs (modèle RPC-1; Data Sciences International) placés sous la cage de chaque rat. Les signaux télémétriques ECG étaient convertis en signaux analogiques (Analog ECG Output Adapter R08; Data Sciences International) et dirigés vers un ordinateur équipé d'une carte d'acquisition (NI PCIe-6251; National Instruments, Austin, TX, USA). Au moyen d'un logiciel développé au laboratoire à partir du progiciel LabVIEW 2009 (National Instruments), les signaux ont été enregistrés en continu à la fréquence d'échantillonnage de 2000 Hz.

#### 3.2.2. Enregistrement de la pression artérielle

Après la conclusion des enregistrements ECG, la pression artérielle (PA) directe a été mesurée. La veille de l'enregistrement, sous anesthésie à l'isoflurane, un cathéter

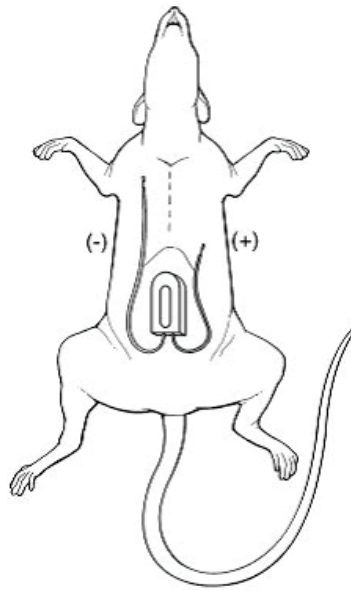


FIGURE 3.1.: Schéma d'implantation de la sonde télémétrique ECG chez le rat. La position des deux électrodes correspond à la dérivation DII. Dans notre étude, l'émetteur était laissé sous la peau en position dorsale.

en polyéthylène (PE) 10 soudé à une extension en PE 50 a été introduit dans l'aorte abdominale infra-rénale via l'artère fémorale gauche. Après implantation, le cathéter était guidé sous la peau du dos et extériorisé entre les omoplates.

Le jour de l'étude, le cathéter artériel était relié à un capteur de pression (TNF-R; Becton Dickinson, Sandy, UT, USA) couplé à un amplificateur (modèle 13-4615-52; Gould, Cleveland, OH, USA). Le signal amplifié de PA était simultanément enregistré graphiquement (modèle 8802; Gould) et numériquement grâce à un ordinateur équipé d'un convertisseur analogique-numérique (AT-MIO-16, National Instruments). Le signal a été échantillonné à la fréquence de 500 Hz et enregistré à l'aide du logiciel LabVIEW 5.1 (National Instruments).

## 3.3. Protocoles

### 3.3.1. Application d'un stress émotionnel

Le stress émotionnel met en jeu différentes réponses homéostatiques dont la plus importante est une activation adréno-sympathique (augmentation de l'activité nerveuse sympathique à destinée cardiaque et vasculaire ainsi que libération d'adrénaline par

les glandes médullosurrénales). Comme certaines formes de FA sont provoquées par le stress émotionnel (Hansson *et al.* 2004), nous avons évalué ses effets dans notre modèle. Le stress a été obtenu en soufflant un jet d'air dans la cage (Julien *et al.* 1988 ; Barrès *et al.* 2004) grâce à un compresseur délivrant de l'air à une pression constante de 1 bar. La durée d'application du stress était de 20 minutes. Des périodes de 10 minutes, avant et après le déclenchement du stimulus, ont été utilisées pour l'analyse.

#### 3.3.2. Injection sous-cutanée de carbamylcholine

La carbamylcholine (ou carbachol) est un agoniste non spécifique des récepteurs cholinergiques. Son administration systémique permet donc de reproduire les effets d'une stimulation vagale au niveau cardiaque. Comme certaines formes de FA sont provoquées par une activation vagale (Coumel 1994), nous avons évalué les effets d'une stimulation cholinergique exogène dans notre modèle. Après une période de base, une dose de 0,4 mg/kg de carbamylcholine a été administrée par voie sous-cutanée. Cinq minutes après l'injection, une période de 10 minutes a été utilisée pour l'analyse.

## 3.4. Analyses

### 3.4.1. Détection automatique des ondes R

La détection des ondes R est obtenue par un algorithme adapté de Pan & Tompkins (1985). Les signaux ECG sont filtrés par un filtre passe-bas de Butterworth du deuxième ordre avec une fréquence de coupure de 125 Hz. Ce filtrage permet d'éliminer les bruits de haute fréquence. Ensuite, la dérivée numérique du signal est calculée (différence entre deux valeurs successives) pour mettre en valeur les complexes QRS. Le carré du signal est ensuite calculé pour obtenir un signal positif. Enfin, le signal est lissé par un filtre passe-bas du même type que précédemment, avec une fréquence de coupure de 25 Hz. Le signal obtenu est utilisé pour détecter les ondes R ainsi que dans la section suivante pour la détection des artéfacts.

Les maximums locaux du signal transformé sont notés et validés comme complexes QRS si leur amplitude est supérieure à 15 % de l'amplitude médiane des 5 derniers complexes QRS validés. Si aucun complexe n'est détecté pendant une seconde, ce seuil de détection est redéfini comme la moyenne du signal entier pendant cette seconde.

Enfin, les ondes R sont identifiées sur le signal ECG d'origine comme les maximums dans une fenêtre de 20 ms avant chaque complexe QRS détecté (pour tenir compte du

décalage introduit par les filtres). La série des intervalles RR est construite comme la différence entre deux ondes R consécutives.

### 3.4.2. Détection automatique des artéfacts

Il est nécessaire d'obtenir une série d'intervalles RR fidèle pour la détection des arythmies. Ainsi, les artéfacts détectés comme ondes R doivent être éliminés. Les artéfacts qui génèrent beaucoup de fausses ondes R sont généralement dus aux mouvements de l'animal. Ces artéfacts se caractérisent par des variations larges et rapides du signal ECG. Pour détecter ces fausses ondes R, deux indices sont calculés pour chaque maximum du signal ECG transformé (défini section 3.4.1) :

- Le *rapport d'amplitude* (RA), défini comme le rapport entre l'amplitude du maximum et l'amplitude médiane des cinq précédents maximums. Comme on ne s'intéresse pas au sens de variation de l'amplitude, on prend l'inverse du rapport si celui-ci est inférieur à 1.
- Le *niveau de bruit* (NB), défini comme le rapport entre le minimum le plus haut de part et d'autre du maximum et l'amplitude du maximum (Figure 3.2).

La Figure 3.3 illustre les valeurs des deux indices pour chaque onde R détectée à partir d'un enregistrement ECG de 24 heures. Les ondes R réelles et artéfactuelles sont le plus souvent placées dans deux zones distinctes du plan, ce qui peut permettre d'écarter la plupart des ondes R artéfactuelles. La courbe de séparation proposée est définie par l'équation reliant  $RA$  et  $NB$  comme suit :  $RA = (\tau/NB) + 1$ , avec un unique paramètre  $\tau$ . L'ensemble des ondes R au dessus de cette courbe est enlevé et les intervalles RR correspondants supprimés de la série temporelle des intervalles RR. La valeur de  $\tau$  est choisie pour optimiser la performance de la classification, définie comme la proportion d'ondes R artéfactuelles supprimées parmi l'ensemble des ondes R artéfactuelles et des ondes R supprimées. Cet indice varie entre 0 (aucune onde R artéfactuelle n'est supprimée) et 1 (toutes les ondes R artéfactuelles, et seulement celles-ci, sont supprimées).

### 3.4.3. Analyse visuelle des arythmies

Les tracés ECG sont analysés visuellement, et différentes arythmies sont identifiées. Tout d'abord, l'extrasystole auriculaire (ESA) est caractérisée par une onde P prématurée et d'une morphologie différente de celle des ondes sinusales. Le complexe QRS qui suit est habituellement identique à celui observé en rythme sinusal. De plus, l'ESA est souvent suivie d'une pause compensatrice (Figure 3.4).

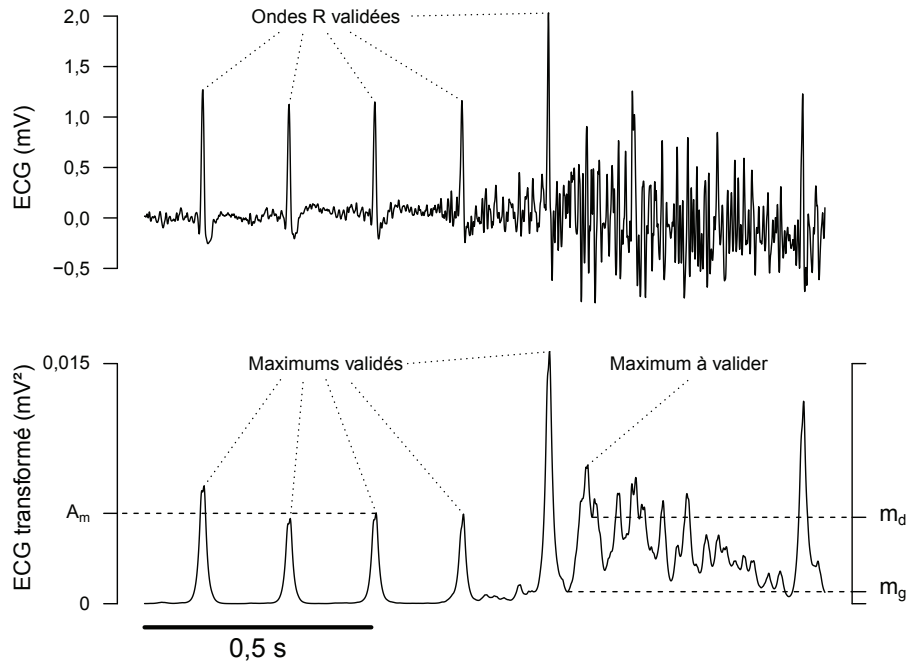


FIGURE 3.2.: Exemple de détection d'ondes R artéfactuelles. Les signaux ECG brut et transformé d'une durée de 1,5 s sont présentés. Cinq ondes R sont validées. Pour valider le maximum suivant sur le signal ECG transformé, le rapport d'amplitude est calculé comme le rapport entre l'amplitude du maximum et l'amplitude médiane des 5 derniers maximums ( $A_m$ ). De même, le niveau de bruit est calculé comme le rapport entre le plus grand minimum de part et d'autre du maximum ( $m_g$  et  $m_d$ ) et l'amplitude du maximum.

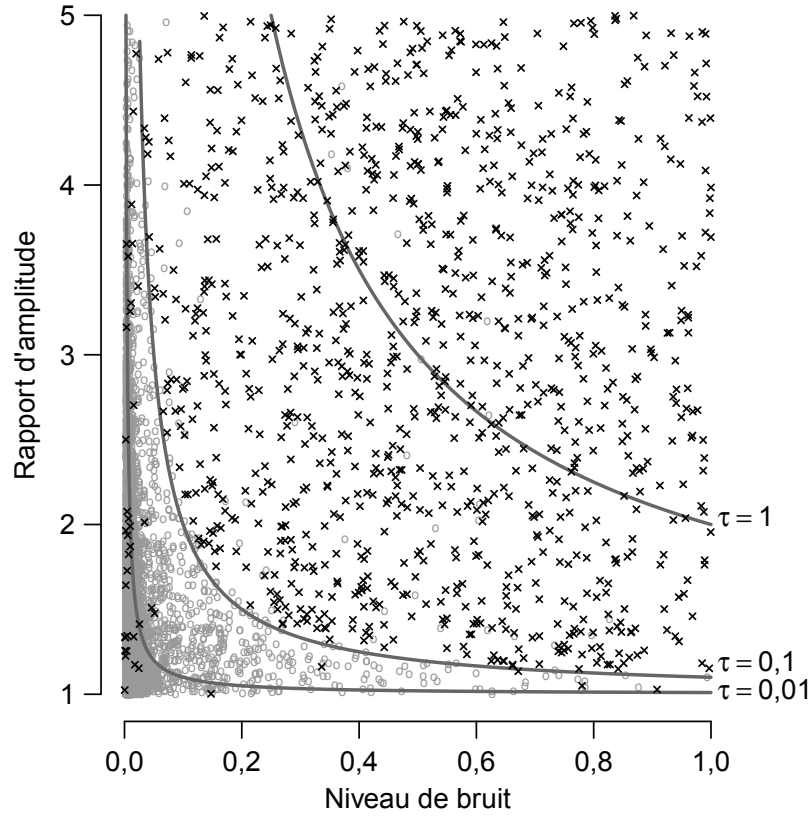


FIGURE 3.3.: Graphe présentant les valeurs du rapport d'amplitude et du niveau de bruit pour toutes les ondes R détectées sur un enregistrement ECG de 24 heures. Au total, 443 209 ondes R ont été détectées automatiquement, parmi lesquelles 2050 sont artéfactuelles (comme l'indique l'analyse visuelle) et sont figurées par des croix noires. Les ondes R réelles sont représentées par des cercles gris. Le rapport d'amplitude (RA) et le niveau de bruit (NB) sont calculés pour chaque onde R. La courbe  $RA = (\tau / NB) + 1$  est tracée pour trois valeurs de  $\tau$  (0,01 ; 0,1 et 1).

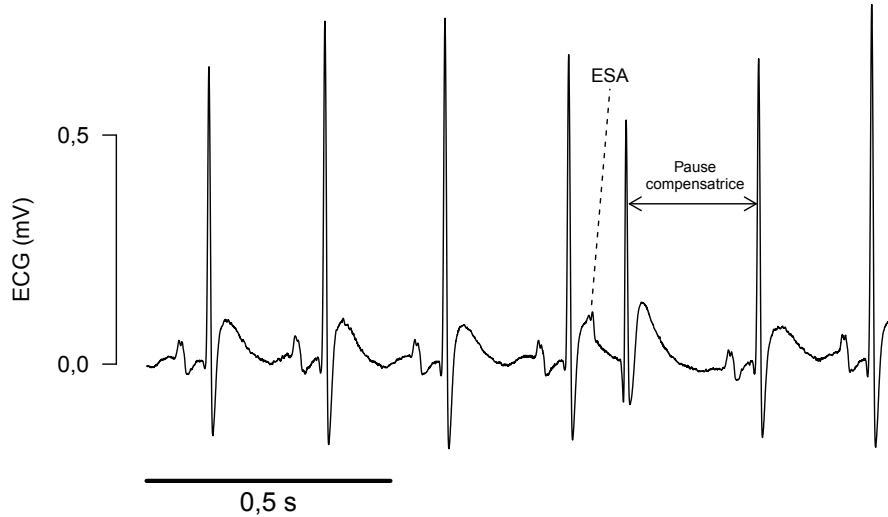


FIGURE 3.4.: Extrasystole auriculaire (ESA), avec une onde P modifiée suivie d'un intervalle RR allongé, appelé pause compensatrice.

Deux ESA consécutives forment un couplet d'ESA (Figure 3.5). Par ailleurs, deux ESA séparées par une onde P sinusale forment un bigéminisme auriculaire (Figure 3.6).

Lorsque trois ESA consécutives ou plus sont présentes, l'épisode arythmique est appelé tachyarythmie atriale (TA). Sur les tracés télémétriques ECG, il est difficile de distinguer la fibrillation atriale (absence d'ondes P) et la tachycardie atriale multifocale (ondes P présentes), c'est pourquoi ces deux types d'arythmies sont regroupés sous le nom de TA (Figure 3.7).

Les arythmies ventriculaires sont aussi identifiées. L'extrasystole ventriculaire est caractérisée par l'existence d'un complexe QRS prématuré et élargi, de morphologie différente des complexes QRS sinusaux. De plus, il y a une absence d'onde P avant le complexe QRS. Après le complexe QRS élargi se trouve une pause compensatrice (Figure 3.8).

#### 3.4.4. Analyse automatique des arythmies

La détection automatique des arythmies est effectuée grâce à un algorithme fondé sur une structure d'automate. Cet algorithme utilise la série temporelle d'intervalles RR comme unique signal d'entrée, et classe chaque battement dans une des trois catégories : normal ( $N$ ), arythmique ( $A$ ) ou comme pause compensatrice ( $P$ ). Cet algorithme détecte les extrasystoles auriculaires et ventriculaires, caractérisées par une réduction de l'intervalle RR.

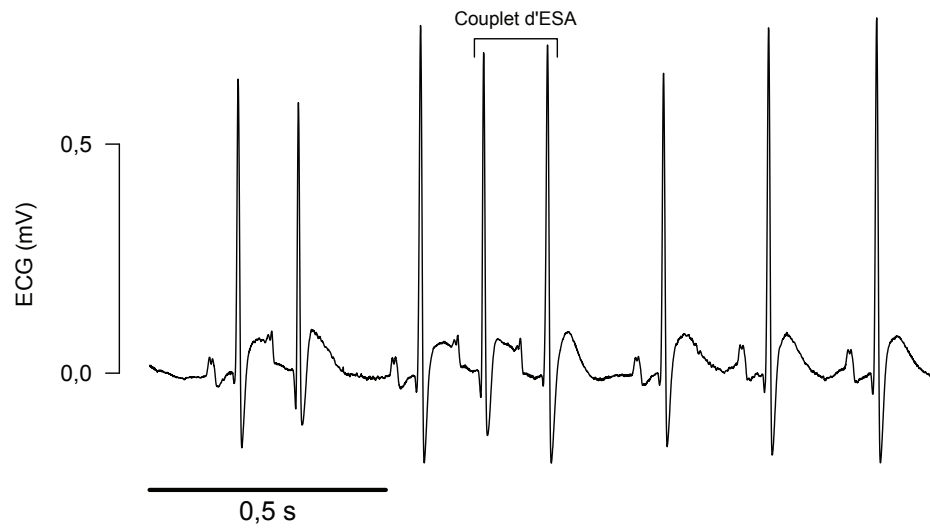


FIGURE 3.5.: Couplet d'extrasystoles auriculaires (ESA), composé de deux ESA consécutives.

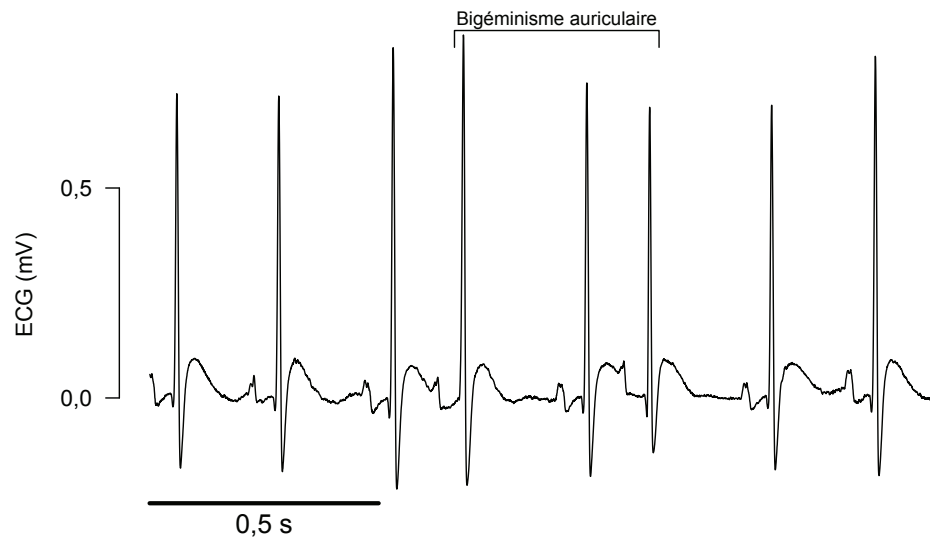


FIGURE 3.6.: Bigéminisme auriculaire, composé d'extrasystoles auriculaires alternées avec un battement sinusal.



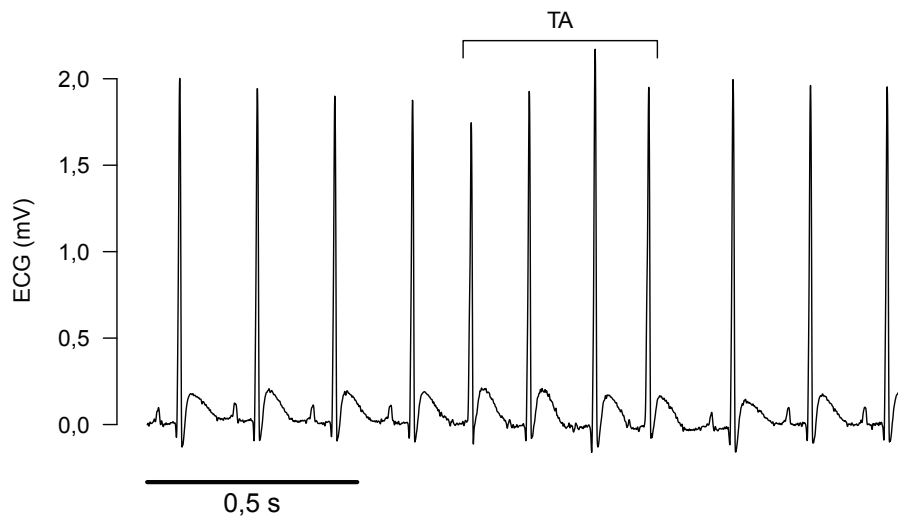


FIGURE 3.7.: Épisode de tachyarythmie atriale, composé de 4 extrasystoles auriculaires successives.

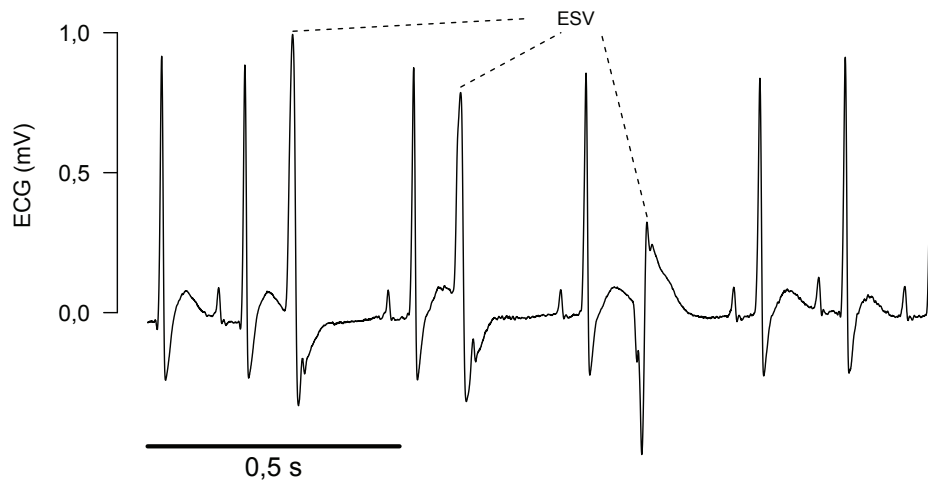


FIGURE 3.8.: Exemple d'extrasystoles ventriculaires (ESV). Les complexes QRS peuvent être positifs ou négatifs. On peut observer une onde P à l'intérieur des complexes QRS des ESV.

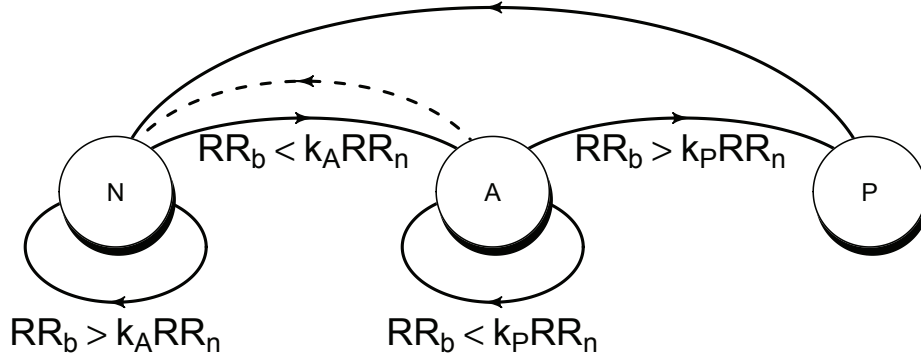


FIGURE 3.9.: Illustration du modèle simple de détection d'arythmies. Les trois classes de l'automate (N, normal ; A, arythmique ; P, pause) sont représentées par des cercles, et les transitions par des flèches.  $RR_b$  est l'intervalle RR actuel,  $RR_n$  est la médiane des cinq précédents intervalles RR normaux, et  $k_A$  et  $k_P$  sont des paramètres (voir ci-dessous). La flèche discontinue représente le cas où une tachycardie sinusale est détectée.

Un premier modèle est introduit, qui sert de base au modèle complet. Dans ce premier modèle, la classe d'un battement  $b$  est déterminée par la classe du battement précédent  $b - 1$ , l'intervalle RR entre ces deux battements ( $RR_b$ ) ainsi que l'intervalle RR de référence ( $RR_n$ ) calculé comme la médiane des 5 derniers intervalles RR entre battements classés comme normaux.  $RR_n$  reflète le rythme sinusal.

Un battement arythmique est caractérisé par une réduction de l'intervalle RR comparé à l'intervalle RR sinusal. La première règle est donc que si le battement  $b - 1$  est normal, alors le battement  $b$  est classé comme arythmique si  $RR_b < k_A RR_n$  et normal dans le cas contraire, pour une certaine valeur de  $k_A$ . De même, un battement arythmique se termine par une pause compensatrice, dont l'intervalle RR est supérieur à l'intervalle RR sinusal. Ainsi, si le battement  $b - 1$  est arythmique, le battement  $b$  est classé comme pause compensatrice si  $RR_b > k_P RR_n$  et arythmique dans le cas contraire, pour une certaine valeur de  $k_P$ . Une dernière règle est nécessaire pour distinguer un épisode tachy-arythmique d'une tachycardie sinusale. Si les cinq derniers battements sont arythmiques et le coefficient de variation des cinq derniers intervalles RR est en dessous d'une certaine valeur  $C$ , alors la séquence arythmique complète est classée comme normale. Un schéma de ce modèle est illustré par la Figure 3.9.

Une limitation de ce modèle est l'utilisation de conditions binaires, ce qui réduit l'in-

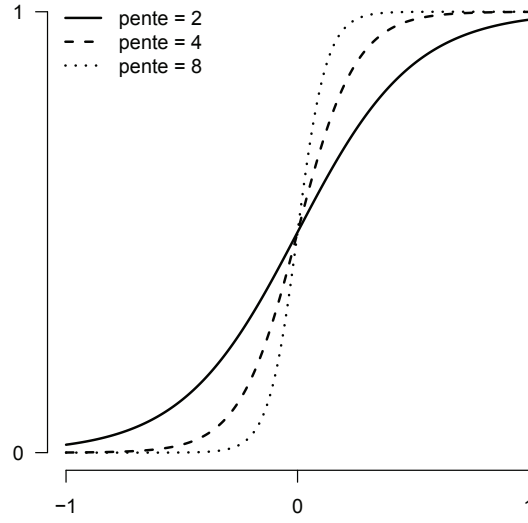


FIGURE 3.10.: Graphe de la fonction logistique  $H_s(x) = 1/(1 + \exp(-2sx))$  pour trois valeurs de la pente  $s$  (2, 4 et 8).

formation utilisée. À partir de ce premier modèle, un modèle plus complexe est élaboré en utilisant des probabilités. À chaque battement est associée une probabilité d'appartenir à chacune des classes  $p_N^b$ ,  $p_A^b$  et  $p_P^b$  respectivement pour normal, arithmique et pause. Les règles du modèle simple sont adaptées à l'aide de la fonction logistique  $H_s(x) = 1/(1 + \exp(-2sx))$ . Cette fonction est caractérisée par  $H_s(x) \approx 0$  pour  $x \ll 0$  et  $H_s(x) \approx 1$  pour  $x \gg 0$ , avec  $s$  la pente de la transition à  $x = 0$  (Figure 3.10).

La première règle devient :  $p_N^b|_N^{b-1} = H_s(RR_b - k_A RR_n)$ , avec  $p_N^b|_N^{b-1}$  la probabilité que le battement  $b$  soit normal sachant que le battement  $b - 1$  est normal, et  $p_A^b|_N^{b-1} = 1 - p_N^b|_N^{b-1}$ . La deuxième règle devient  $p_P^b|_A^{b-1} = H_s(RR_b - k_P RR_n)$  et  $p_A^b|_A^{b-1} = 1 - p_P^b|_A^{b-1}$ . On pose de plus  $p_N^b|_P^{b-1} = 1$  et  $p_P^b|_N^{b-1} = p_N^b|_A^{b-1} = p_A^b|_P^{b-1} = p_P^b|_P^{b-1} = 0$ .

En utilisant les probabilités conditionnelles, on obtient l'expression de  $p_N^b$  :

$$p_N^b = p_N^{b-1} p_N^b|_N^{b-1} + p_A^{b-1} p_N^b|_A^{b-1} + p_P^{b-1} p_N^b|_P^{b-1} \quad (3.1)$$

$$= p_N^{b-1} H_s(RR_b - k_A RR_n) + p_P^{b-1} \quad (3.2)$$

Les autres expressions sont obtenues de la même manière :

$$p_A^b = p_N^{b-1}(1 - H_s(RR_b - k_A RR_n)) + p_A^{b-1}(1 - H_s(RR_b - k_P RR_n)) \quad (3.3)$$

$$p_P^b = p_A^{b-1} H_s(RR_b - k_P RR_n) \quad (3.4)$$

Après avoir calculé les probabilités pour le battement  $b$ , le battement est classé dans une des trois catégories selon les règles suivantes :

- si  $p_N^b > 0,5$ , le battement  $b$  est classé comme normal. On définit alors  $p_N^b = 1$ ,  
 $p_A^b = p_P^b = 0$
- si  $p_P^b > 0,5$ , le battement  $b$  est classé comme pause. On définit alors  $p_N^b = 1$ ,  
 $p_A^b = p_P^b = 0$
- sinon, le battement  $b$  est classé comme arythmique

L'algorithme est initialisé par  $p_N^0 = 1$ ,  $p_A^0 = p_P^0 = 0$ . De plus, les cinq premiers battements ne sont pas classés, et sont considérés normaux pour pouvoir calculer  $RR_n$ .

L'algorithme dépend de la valeur de quatre paramètres  $k_A$ ,  $k_P$ ,  $s$  et  $C$ . Ces paramètres sont choisis pour maximiser la performance de l'algorithme, définie par  $VP/(VP + FP + FN)$ . VP (vrais positifs) est le nombre de battements arythmiques correctement classés, FP (faux positifs) est le nombre de battements normaux classés comme arythmiques et FN (faux négatifs) est le nombre de battements arythmiques classés comme normaux.

### 3.4.5. Analyse de la variabilité sinusale

Tous les épisodes arythmiques ainsi que les pauses compensatrices ont été exclus avant analyse. La fréquence cardiaque ainsi que des indices de variabilité sinusale sont calculés sur des enregistrements de 24 heures. La variabilité sinusale est analysée dans le domaine temporel par le calcul de l'écart-type des intervalles RR (SDNN), de la racine de la moyenne des carrés des écarts successifs d'intervalles RR (RMSSD) ainsi que du pourcentage d'intervalles RR adjacents qui diffèrent de plus de 5 ms (pNN5). Dans le domaine fréquentiel, les séries d'intervalles RR sont rééchantillonnées à 20 Hz par une spline cubique. Ensuite, les puissances spectrales dans les bandes de basse fréquence (LF : 0,3 – 0,6 Hz), de haute fréquence (HF : 0,6 – 2,5 Hz), ainsi que le rapport LF/HF sont estimés sur des segments de 2048 valeurs (102,4 s) en utilisant la transformée de Fourier rapide, avec application de la fenêtre de Hanning et recouvrement de 50 %.

## 4. Tachyarythmies atriales spontanées chez le rat spontanément hypertendu vieillissant : rôle du système nerveux autonome

**Article :** Unprovoked atrial tachyarrhythmias in aging spontaneously hypertensive rats : the role of the autonomic nervous system

Scridon A, Gallet C, Arisha M, Oréa V, Chapuis B, Li N, Tabib A, Christé G, Barrès C, Julien C, Chevalier P.

*Am J Physiol Heart Circ Physiol* 303 : H386-H392, 2012.

La FA est l'arythmie cardiaque la plus fréquente, touchant environ 1 % de la population générale (Charlemagne *et al.* 2011). De nombreux modèles animaux ont été développés pour étudier les mécanismes physiopathologiques de la FA (Wakimoto *et al.* 2001 ; Choi *et al.* 2010). Cependant, dans ces modèles, les arythmies sont provoquées, à l'aide par exemple d'une stimulation électrique. Il n'existe pas actuellement de modèle animal dans lequel cette arythmie survienne de manière spontanée. L'âge (Allessie *et al.* 2001) et l'hypertension artérielle (Chugh *et al.* 2001) sont deux facteurs de risque majeurs chez l'Homme. Par ailleurs, l'âge et l'hypertension augmentent la susceptibilité aux arythmies atriales du cœur de rat isolé (Choisy *et al.* 2007 ; Lau *et al.* 2013). Nous avons donc recherché si le rat spontanément hypertendu (SHR) vieillissant présente des arythmies atriales. Dans cette même étude, nous avons aussi abordé le rôle du système nerveux autonome dans la survenue de ces arythmies.

Des enregistrements télémétriques de 24 h de l'ECG ont été réalisés chez 8 rats SHR âgés (55 semaines d'âge), 4 rats normotendus (de souche WKY) du même âge, ainsi que

---

chez 8 jeunes rats SHR (14 semaines d'âge) et 4 jeunes rats WKY du même âge. Les enregistrements ont été analysés visuellement et les épisodes de TA, définis comme un rythme atrial rapide et irrégulier d'au moins 3 battements, ont été quantifiés. Dans le cadre de l'étude sur le système nerveux autonome, les indices de variabilité sinusale ont été calculés. De plus, un stress émotionnel (produisant une activation sympathique) a été induit grâce à l'envoi d'un jet d'air dans la cage du rat pendant 20 minutes. Enfin, les effets aigus d'une stimulation muscarinique ont été évalués par l'administration par voie sous-cutanée d'une dose de 0,4 mg/kg de carbamylcholine (agoniste non spécifique des récepteurs cholinergiques).

Des épisodes de TA ont été observés chez tous les rats SHR âgés et chez aucun jeune rat SHR et aucun rat WKY, jeune ou vieillissant. La puissance spectrale dans la bande LF ainsi que le rapport LF/HF étaient diminués chez les rats SHR âgés par rapport à leurs contrôles normotendus du même âge. Le stress émotionnel a supprimé les arythmies atriales chez les vieux rats SHR, et l'injection de carbamylcholine a augmenté l'instabilité électrique atriale et déclenché des épisodes de TA.

Cette étude démontre la survenue spontanée d'épisodes de TA chez le rat SHR vieillissant. Les résultats suggèrent en outre qu'un déséquilibre de la balance sympatho-vagale avec prédominance vagale pourrait être impliqué dans l'instabilité électrique atriale observée dans ce modèle.

## Unprovoked atrial tachyarrhythmias in aging spontaneously hypertensive rats: the role of the autonomic nervous system

Alina Scridon,<sup>1,2</sup> Clément Gallet,<sup>2</sup> Moussa M. Arisha,<sup>3</sup> Valérie Oréa,<sup>2</sup> Bruno Chapuis,<sup>2</sup> Na Li,<sup>2</sup> Alain Tabib,<sup>4</sup> Georges Christé,<sup>2</sup> Christian Barrès,<sup>2</sup> Claude Julien,<sup>2</sup> and Philippe Chevalier<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>University of Medicine and Pharmacy of Targu Mures, Romania; <sup>2</sup>Unité de Neurocardiologie, Université Lyon 1, F-69008, Lyon, France; <sup>3</sup>Hospices Civils de Lyon, Hôpital Louis Pradel, Service de Rythmologie, Lyon, France; and <sup>4</sup>Institut de Médecine Légale de Lyon, France

Submitted 3 January 2012; accepted in final form 25 May 2012

**Scridon A, Gallet C, Arisha MM, Oréa V, Chapuis B, Li N, Tabib A, Christé G, Barrès C, Julien C, Chevalier P.** Unprovoked atrial tachyarrhythmias in aging spontaneously hypertensive rats: the role of the autonomic nervous system. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 303: H386–H392, 2012. First published June 1, 2012; doi:10.1152/ajpheart.00004.2012.—Experimental models of unprovoked atrial tachyarrhythmias (AT) in conscious, ambulatory animals are lacking. We hypothesized that the aging, spontaneously hypertensive rat (SHR) may provide such a model. Baseline ECG recordings were acquired with radiotelemetry in eight young (14-wk-old) and eight aging (55-wk-old) SHRs and in two groups of four age-matched Wistar-Kyoto (WKY) rats. Quantification of AT and heart rate variability (HRV) analysis were performed based on 24-h ECG recordings in unrestrained rats. All animals were submitted to an emotional stress protocol (air-jet). In SHRs, carbamylcholine injections were also performed. Spontaneous AT episodes were observed in all eight aging SHRs (median, 91.5; range, 4–444 episodes/24 h), but not in young SHRs or WKY rats. HRV analysis demonstrated significantly decreased low frequency components in aging SHRs compared with age-matched WKY rats ( $P < 0.01$ ) and decreased low/high frequency ratios in both young ( $P < 0.01$ ) and aging ( $P = 0.01$ ) SHRs compared with normotensive controls. In aging SHRs, emotional stress significantly reduced the number of arrhythmic events, whereas carbamylcholine triggered AT and significantly increased atrial electrical instability. This study reports the occurrence of unprovoked episodes of atrial arrhythmia in hypertensive rats, and their increased incidence with aging. Our results suggest that autonomic imbalance with relative vagal hyperactivity may be responsible for the increased atrial arrhythmogenicity observed in this model. We also provide evidence that, in this model, the sympatho-vagal imbalance preceded the occurrence of arrhythmia. These results indicate that aging SHRs may provide valuable insight into the understanding of atrial arrhythmias.

spontaneous atrial arrhythmias; experimental model; autonomic imbalance

ATRIAL FIBRILLATION (AF) AFFECTS ~1% of the general population and up to 8% of subjects over the age of 80 (9). Incomplete understanding of the pathophysiological mechanisms of arrhythmia explains the relative failure of available antiarrhythmic strategies to effectively treat atrial electrical instability (3, 21).

Numerous animal models have been developed to explore the mechanisms that initiate and maintain atrial tachyarrhythmias (AT), including AF, and to evaluate different therapeutic strategies (6, 12, 30). Yet, none of these models manage to faithfully reproduce the human clinical condition. Experi-

mental models of spontaneous AT in conscious, ambulatory animals are still lacking. Previous studies have reported “spontaneous AT or AF” in animals. However, in those models, arrhythmia occurred only after applying programmed stimulation protocols (6). A number of essential features for AT occurrence, such as structural, electrical, or autonomic remodeling, could have been artificially induced in these models. Therefore, in our opinion, “spontaneous” is not the proper term for describing the type of arrhythmias reported in those articles; we believe that the term “spontaneous” should be reserved for situations that have not used artificial means to trigger the arrhythmia.

The purpose of the present study was to develop a model that could reproducibly exhibit spontaneous AT in rats and to describe its phenotypic features. Because aging (1) and arterial hypertension (1, 7) are the most frequent risk factors associated with atrial arrhythmogenicity, we hypothesized that aging rats of the spontaneously hypertensive rat (SHR) strain might provide a reliable model of spontaneous atrial arrhythmia. Accordingly, we aimed to assess, in baseline conditions, the occurrence of spontaneous AT and several other markers of increased atrial arrhythmogenicity (i.e., atrial premature contractions, couplets, and bigeminisms) in young and aging SHRs. These parameters were compared with those observed in normotensive controls. For this study, we used 24-h continuous ECG recordings, acquired with radiotelemetry.

Autonomic imbalance has been implicated as a potential facilitator in the occurrence and maintenance of AT in humans and various animal models. Several factors, such as heterogeneous autonomic innervation of the atria (19) or a complex and dynamic inter-relationship between the two branches of the autonomic nervous system (26, 31), may be involved in arrhythmia occurrence. Accordingly, the presence and the pattern of an autonomic imbalance were searched using heart rate (HR) variability (HRV) analysis and two experimental protocols that targeted the autonomic nervous system (i.e., emotional stress and carbamylcholine administration).

### MATERIALS AND METHODS

**Animals.** Male SHRs and normotensive Wistar-Kyoto (WKY) rats were purchased from Elevage Janvier (Le Genest Saint Isle, France).

All animals were housed in a climate-controlled room (21° to 22°C), with a 12-h:12-h light/dark cycle, in an accredited animal facility. The rats were housed individually in polycarbonate cages and fed standard rat pellets and tap water ad libitum.

All experiments were performed in compliance with the French Ministry of Agriculture guidelines for animal experimentation and adhered to the American Physiological Society Guiding Principles in

Address for reprint requests and other correspondence: Philippe Chevalier, Hôpital Louis Pradel, Service de Rythmologie, 28 Ave. du Doyen Lépine, 69500 Bron Cedex, France (e-mail: philippe.chevalier@chu-lyon.fr).



the Care and Use of Vertebrate Animals in Research and Training, and they were approved by the local Animal Ethics Committee.

**Transmitter implantation procedure.** Radiotelemetry ECG transmitters (TA11 CA-F40; Data Sciences International, St. Paul, MN) were implanted under isoflurane anesthesia. Each animal received subcutaneous prophylactic injections of penicillin G (50,000 IU) and ketoprofen (2 mg/kg). The body of each transmitter was placed in a dorsal, subcutaneous pocket, and the two ECG leads were tunneled subcutaneously and secured in a lead II configuration. After the implantation procedure, animals were allowed at least 1 wk of recovery before recording.

**ECG recording.** For baseline quantification of atrial arrhythmic events, 24-h continuous ECG monitoring was performed on unrestrained, conscious rats. Recordings were conducted on eight 55-wk-old SHR (471  $\pm$  5 g), four age-matched WKY rats (576  $\pm$  11 g), eight young (14-wk-old) SHR (342  $\pm$  3 g), and four young (14-wk-old) WKY rats (397  $\pm$  5 g). ECG signal capture was accomplished with receivers (RPC-1; Data Sciences International) placed under each experimental cage. Telemetry ECGs were converted to analog signal (Analog ECG Output Adapter R08; Data Sciences International) and routed to a personal computer equipped with a signal acquisition card (NI PCIe-6251; National Instruments, Austin, TX). An acquisition program developed in our laboratory using LabVIEW 2009 software (National Instruments) allowed the signal to be continuously recorded with a 2,000-Hz sampling frequency and stored on hard disk.

**ECG analysis.** ECG data were analyzed using a program recently developed in our laboratory using LabVIEW 2010 software (National Instruments) to automatically detect R waves and measure RR intervals, as previously described (23). All ECG tracings were visually assessed by two independent cardiologists. In the vast majority of time ECG quality allowed easy recognition of all atrial arrhythmic events. Infrequently, intense animal somatomotor activity was associated with altered ECG signal and artifacts; this impaired proper assessment of the atrial electrical activity. Therefore, all artifactual periods were discarded before analysis.

AT was defined as rapid, irregular, supraventricular rhythm [irregular ventricular response with narrow QRS complexes, exceeding by at least 50 beats/min the HR measured during sinus rhythm], of at least 3 beats. The diagnosis also required that P waves were absent or replaced by atrial waves with morphology significantly different compared with sinus rhythm P waves. Premature atrial contractions (PACs) were defined as early atrial activations, with morphology different compared with sinus rhythm P waves. Atrial couplets were defined as a pair of atrial premature activations in a row, whereas the regular succession of a normal sinus beat and an atrial premature activation was defined as atrial bigeminism.

The total numbers of AT episodes, PACs, atrial couplets, and bigeminisms were quantified on the 24-h recording. The duration of an AT episode (top of the R wave) to the first sinus rhythm beat that followed the episode.

To test for day-to-day reproducibility, four aging SHR underwent 48-h continuous recording, instead of the standard 24-h recording. Data used for between-group comparisons corresponded to the first 24-h period. To test for medium-term reproducibility, comparisons were also performed, for all eight aging SHR, between the 24-h recording used in between-group comparisons and a second recording, performed 1 wk earlier.

**HRV analysis.** All arrhythmic events and compensatory pauses were excluded manually before analysis. The mean HR was automatically calculated over 24-h intervals. The HRV during sinus rhythm was assessed in the 24-h recordings for each animal.

HRV was assessed by analyzing beat-to-beat variations in RR intervals in the time and frequency domains, as previously described (2). For the time domain analysis, SD of normal RR intervals, root-mean-square of successive RR-interval differences, and percent-

age of adjacent RR intervals that differed by  $>5$  ms (pNN5) were calculated. For the frequency domain analysis, time series were resampled at 20 Hz using a cubic spline, then spectral power in the low-frequency (LF) band (0.3–0.6 Hz), high-frequency (HF) band (0.6–2.5 Hz), and the LF-to-HF ratio were estimated on 2,048-point (102.4 s) segments windowed by the Hanning function and overlapping by 50% using a fast Fourier transform.

Additionally, to identify potential significant changes in autonomic tone preceding arrhythmic events, we analyzed several intervals of intense arrhythmic activity (frequent PACs and AT episodes) and the 5-min periods preceding these intervals. The resulting frequency-domain parameter values were compared with baseline values.

**Emotional stress protocol in conscious rats.** Because of its ability to induce pure sympathetic stimulation, while lowering the sensitivity of the cardiac baroreceptor reflex (4, 14), a mild emotional stress protocol elicited by blowing a jet of air into the cage for 20 min was applied to each of the following animals: at the age of 16 wk for young SHR and WKY rats, 47 wk for aging WKY rats, and 64 wk for six aging SHR. Air was delivered through a tube (6 mm internal diameter) inserted in a hole at the bottom of the cage, as previously described (33). The pressure in the relief valve of the air tank was set at 1 bar. The stress test was applied when rats were in a quiet resting state.

A baseline recording was acquired for each animal before the onset of the protocol. Arrhythmic events and HRV analyses were assessed over 10-min intervals. The stress-related values were compared with baseline values.

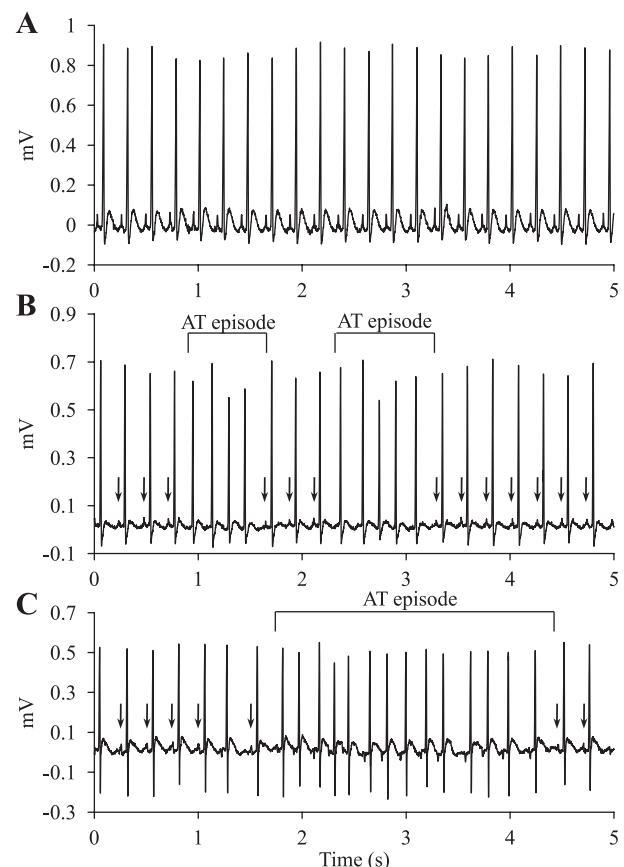


Fig. 1. ECG tracings in 55-wk-old spontaneously hypertensive rats (SHRs) showing sinus rhythm (A); 2 atrial tachyarrhythmias (AT) episodes suggesting a diagnosis of atrial fibrillation (rapid, irregular rhythm, with persistence of narrow QRS complexes, in the absence of visible P waves) (B); and AT episode suggesting a diagnosis of multifocal AT (rapid, irregular rhythm, with persistence of narrow QRS complexes and wide, inverted atrial waves, with continually changing morphology) (C). B and C, arrows: sinus rhythm beats.



**Subcutaneous injection of carbamylcholine in conscious rats.** A baseline recording was obtained for three aging SHR rats at the age of 60 wk and for all eight young SHR rats at the age of 16 wk. A 0.4 mg/kg dose of carbamylcholine was then injected subcutaneously. A 10-min period initiated 5 min after carbamylcholine injection was analyzed, and the number of arrhythmic events was compared with that recorded during the 10-min preinjection period. None of the WKY rats underwent this protocol.

**Invasive blood pressure measurement.** To evaluate the degree of hypertension, intra-arterial blood pressure was measured in conscious, unrestrained rats, as previously described (13). The catheterization procedure was performed in five SHR rats at the age of  $64 \pm 2$  wk and in all four WKY rats at the age of 68 wk. One rat in the aging SHR group died during arterial catheterization. None of the young SHR rats or WKY rats underwent this procedure.

**Statistics.** Data are expressed as means  $\pm$  SE or median and range, as appropriate. Nonparametric ANOVA (Kruskal-Wallis test) was used for multiple comparisons. Between-group comparisons were performed using the Mann-Whitney *U* test using Holm's method for multiple comparisons. Differences within the same group were tested for significance with the Wilcoxon signed-rank test. Nonparametric repeated-measures ANOVA (Friedman test) were used for repeatability data. Frequency domain parameters were also analyzed by a nonparametric (using a rank transform) two-way ANOVA, factoring for the effects of both blood pressure status (normotensive vs. hypertensive) and age (young vs. aging). Medium-term reproducibility in the number of AT episodes was analyzed using Spearman correlation. To assess day-to-day reproducibility, the mean percent variation of the number of AT episodes was calculated.

A *P* value of less than 0.05 was considered statistically significant. Statistical analyses were undertaken using GraphPad Prism software (GraphPad Software; San Diego, CA).

## RESULTS

**Atrial arrhythmic activity at baseline.** Figure 1 depicts typical ECG tracings recorded in 55-wk-old SHR rats.

The number of tachyarrhythmic episodes in aging SHR rats was significantly greater than that in young SHR rats ( $P < 0.001$ ), whereas no episodes were recorded in normotensive rats, regardless of their age (Fig. 2A). Two of the eight young SHR rats

presented a single episode of AT, while all eight aging SHR rats had tachyarrhythmic episodes (median, 91.5; range, 4–444 episodes/24 h). Similar differences were observed in the number of PACs (Fig. 2B), atrial couplets (Fig. 2C), and bigemini (Fig. 2D).

In aging SHR rats, over 24 h, the median total duration of episodes was 60 s/24 h (range, 2–372 s). The median duration of tachyarrhythmic episodes was 0.71 s (range, 0.53–1.63 s). In this group, episode duration ranged from 0.43 s to 10.90 s; in the two young SHR rats that presented AT, the episode durations were 0.4 s and 0.52 s.

In aging SHR rats, the RR intervals during AT episodes were  $69 \pm 1\%$  shorter than the RR intervals during sinus rhythm ( $P < 0.001$ ). The ECG aspect was consistent with the diagnosis of AF (rapid, irregular, supraventricular rhythm, in the absence of visible P waves) in 30.6% of cases. In the remaining cases, the ECG morphology suggested a diagnosis of atrial tachycardia (rapid, irregular, supraventricular rhythm, with atrial waves with significantly different morphology compared with sinus rhythm P waves).

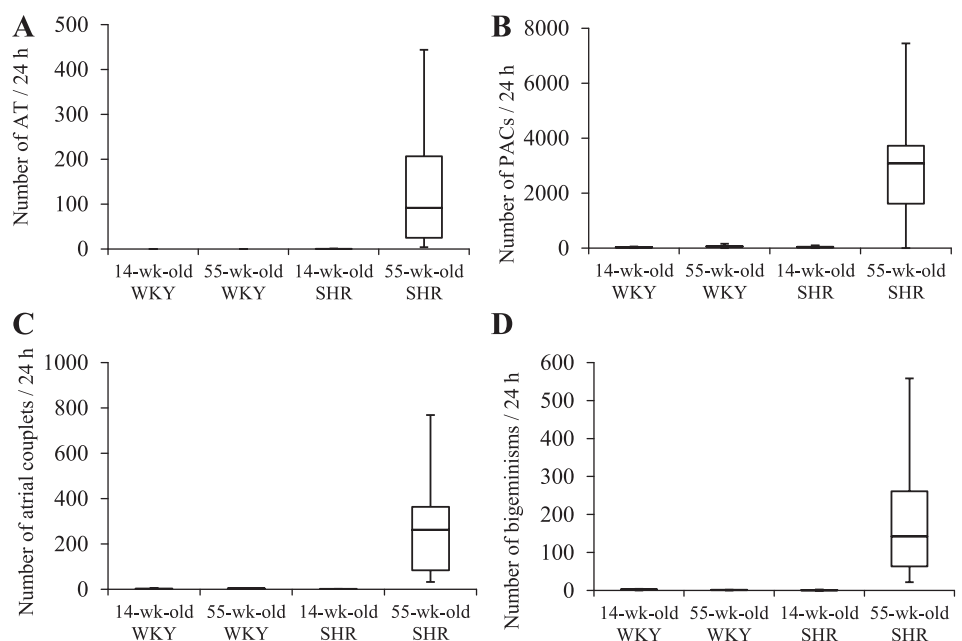
Aging SHR rats showed high day-to-day (mean percent variation of the number of AT episodes  $18.1\% \pm 4.7\%$ ) and medium-term ( $P = 0.01$ ) reproducibility of the number of arrhythmic episodes (Fig. 3, A and B).

Occasionally, aging SHR rats showed isolated, monomorphic, premature ventricular contractions.

**Assessment of the autonomic tone.** The 24-h ECG monitoring indicated that aging SHR rats were more bradycardic ( $278 \pm 4$  beats/min) than age-matched WKY rats ( $335 \pm 2$  beats/min,  $P = 0.01$ ), young SHR rats ( $326 \pm 6$  beats/min,  $P < 0.01$ ), or young WKY rats ( $355 \pm 5$  beats/min,  $P < 0.01$ ).

HRV analysis demonstrated significantly decreased LF components in aging SHR rats compared with age-matched WKY rats, and decreased LF-to-HF ratios in both young and aging SHR rats compared with age-matched WKY rats (Table 1). A two-factor ANOVA demonstrated that LF components were significantly affected by blood pressure status ( $P = 0.002$ ), but they were

Fig. 2. Number of supraventricular arrhythmic events: episodes of AT (A); premature atrial contractions (PACs; B); atrial couplets (C); and atrial bigemini (D), during 24-h ECG recordings in 14-wk-old ( $n = 4$ ) and 55-wk-old ( $n = 4$ ) Wistar-Kyoto (WKY) rats, and in 14-wk-old ( $n = 8$ ) and 55-wk-old ( $n = 8$ ) SHR rats. Data are expressed as median and interquartile range (IQR). The ends of the whiskers represent the lowest value within 1.5 IQR of the first quartile and the highest value within 1.5 IQR of the third quartile.



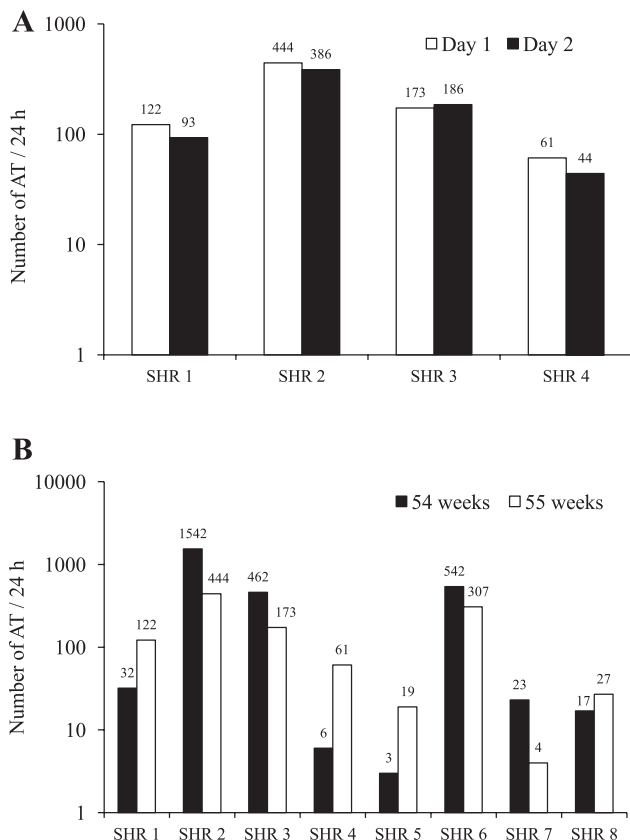


Fig. 3. Day-to-day (A) and medium-term (B) reproducibility of AT episodes in individual aging SHR rats. A: comparison between the total number of arrhythmic episodes during the first (day 1) and second (day 2) 24-h period in 4 individual, 55-wk-old SHR rats that underwent 48-h continuous ECG monitoring. The mean percent variation in the number of AT episodes was  $18.1\% \pm 4.7\%$ . B: comparison between the total number of arrhythmic episodes in 8 individual SHR rats at 54 and 55 wk of age, respectively (Spearman correlation coefficient, 0.83;  $P = 0.01$ ). Results are shown in log scale.

not significantly affected by age ( $P > 0.05$ ), and there was no interaction between blood pressure status and age ( $P > 0.05$ ). The same analysis demonstrated that the LF-to-HF ratio was significantly affected by both age and blood pressure status (both  $P < 0.05$ ); again, we found no interaction between age and blood pressure status ( $P > 0.05$ ).

In aging SHR rats, recordings performed 1 wk apart showed significant reproducibility of all HRV parameters (all  $P > 0.05$ ).

In aging SHR rats, the HRV analysis showed no significant changes in LF, HF, or LF-to-HF components in the 5-min intervals that preceded the onset of periods of intense arrhythmic activity compared with baseline values (all  $P > 0.05$ ). Most of the arrhythmic episodes occurred during periods of intense arrhythmic activity (frequent PACs), but in 28% of cases AT episodes occurred after sinus bradycardia or sinus pauses.

**The effect of stress on atrial arrhythmogenicity.** In the six aging SHR rats, a median of 0.5 (range, 0–5) tachyarrhythmic episodes was observed during the 10-min interval preceding the onset of the stress protocol, whereas no episode was recorded during stress exposure. Similarly, the number of PACs decreased from a median of 13.5 (range, 1–33) before stress to a median of 1 (range, 0–14) during stress exposure ( $P = 0.04$ ).

No AT or PACs were present in WKY rats, regardless of their age, before or after the onset of the stress protocol. No AT and few PACs were observed in young SHR rats, before or during stress exposure.

The emotional stress induced an increase in HR; HR increased in young WKY rats from  $288 \pm 9$  to  $313 \pm 18$  beats/min,  $P = 0.25$ ; in aging WKY rats from  $315 \pm 10$  to  $341 \pm 12$  beats/min,  $P = 0.38$ ; in young SHR rats from  $282 \pm 6$  to  $412 \pm 10$  beats/min,  $P = 0.007$ ; and in aging SHR rats from  $273 \pm 10$  to  $363 \pm 9$  beats/min,  $P = 0.03$ . Since only SHR rats presented spontaneous episodes of AT, HRV analysis before and during stress was only performed in these groups. In aging SHR rats, the HRV analysis showed significant increases in the LF-to-HF ratio during stress compared with prestress values (Table 2). Comparable results were obtained in young SHR rats: LF increased during stress from  $0.60 \pm 0.14$  ms<sup>2</sup> to  $1.11 \pm 0.23$  ms<sup>2</sup> ( $P = 0.007$ ), HF decreased from  $5.62 \pm 0.10$  ms<sup>2</sup> to  $3.19 \pm 0.39$  ms<sup>2</sup> ( $P = 0.03$ ), and the LF-to-HF ratio increased from  $0.11 \pm 0.01$  to  $0.35 \pm 0.05$  ( $P = 0.007$ ).

**Carbamylcholine administration and atrial arrhythmias.** Before carbamylcholine administration, aging SHR rats presented a median of 15 PACs (range 6–29), and no episodes of AT were recorded. In the 10-min interval following carbamylcholine injection, a median of 70 PACs (range 40–271) and a

Table 1. Baseline heart rate variability parameters in young and aging groups of WKY rats and SHR

Parameter	WKY rats, weeks		SHR rats, weeks		P Value
	14	55	14	55	
<i>n</i>	4	4	8	8	
Time domain					
SDNN, ms	$28.33 \pm 1.21$	$25.14 \pm 1.82$	$21.42 \pm 0.85^*$	$27.09 \pm 3.16^\dagger$	0.01
RMSSD, ms	$4.05 \pm 0.45$	$4.85 \pm 0.54$	$3.58 \pm 0.32$	$3.80 \pm 0.32$	0.28
pNN5, %	$0.17 \pm 0.03$	$0.26 \pm 0.04$	$0.14 \pm 0.03$	$0.16 \pm 0.03$	0.21
Frequency domain					
LF, ms <sup>2</sup>	$1.57 \pm 0.35$	$1.96 \pm 0.31$	$1.00 \pm 0.17$	$0.86 \pm 0.16^*$	0.03
HF, ms <sup>2</sup>	$5.99 \pm 1.33$	$7.70 \pm 1.56$	$5.53 \pm 1.11$	$6.13 \pm 1.37$	0.62
LF/HF	$0.26 \pm 0.01$	$0.27 \pm 0.04$	$0.19 \pm 0.01^*$	$0.14 \pm 0.01^{\dagger}$	0.001

Values are means  $\pm$  SE. Recordings were characterized in the time domain: SDNN, SD of normal RR intervals; RMSSD, root-mean-square of successive RR-interval differences; pNN5, percentage of adjacent RR intervals that differed by  $>5$  ms. Recordings were characterized in the frequency domain: LF and HF, low-frequency (0.3–0.6 Hz) and high-frequency (0.6–2.5 Hz) signals, respectively; LF/HF, the ratio of low to high frequency components.  $P$  values refer to comparisons between groups based on multiple comparisons ANOVA.  $^*P < 0.05$  for spontaneously hypertensive rats (SHR) vs. age-matched Wistar-Kyoto (WKY) rats;  $^\dagger P < 0.05$  for 55-wk-old SHR vs. 14-wk-old SHR.

Table 2. Heart rate variability parameters before and during stress in aging SHR

Parameter	Stress		P Value
	Before	During	
Time domain			
RMSSD, ms	3.58 ± 0.66	2.22 ± 0.53	0.01
pNN5, %	0.14 ± 0.05	0.04 ± 0.02	0.06
Frequency domain			
LF, ms <sup>2</sup>	0.67 ± 0.15	1.70 ± 0.69	0.20
HF, ms <sup>2</sup>	4.33 ± 1.35	2.57 ± 0.86	0.27
LF/HF	0.19 ± 0.03	0.56 ± 0.09	0.01

Values are means ± SE; *n* = 6 aging SHRs. Recordings were characterized in the time and frequency domains. *P* values refer to comparisons between conditions based on the Wilcoxon signed-rank test.

median of 3 (range 1–29) episodes of AT were observed. The AT episodes that occurred after carbamylcholine administration had a median duration of 1.89 s (range 0.90–10.13 s), significantly longer than the duration of AT episodes in the 24-h baseline recordings (*P* < 0.001).

No AT and few PACs were observed in young SHRs, before or after carbamylcholine administration.

In aging SHRs, the high electrical instability observed after carbamylcholine administration, with an elevated number of PACs and AT episodes and very few periods of stable sinus rhythm, did not allow HRV analysis to be properly performed.

**Blood pressure measurement.** Systolic, diastolic, and mean blood pressure, and pulse pressure values in aging SHRs and WKY rats are presented in Table 3. As expected, SHRs had significantly higher systolic, diastolic, and mean blood pressure than WKY rats (all *P* = 0.02). Similarly, pulse pressure was significantly higher in SHRs than in normotensive controls (*P* = 0.03).

## DISCUSSION

The main findings of the present study were 1) all aging SHRs developed spontaneous, unsustained AT, whereas young SHRs and both young and aging WKY rats did not; 2) in aging SHRs, the arrhythmic burden showed high day-to-day and medium-term reproducibility; 3) in aging SHRs, sympatho-vagal imbalance, with reduced sympathetic tone, was observed; 4) in aging SHRs, sympathetic activation by emotional stress removed all AT and significantly reduced the number of PACs, whereas parasympathetic stimulation with carbamylcholine had marked pro-arrhythmic effects; and 5) sympatho-vagal imbalance was already present in young SHRs and preceded the occurrence of arrhythmia.

To the best of our knowledge, this is the first study to report the occurrence of spontaneous AT in animals, in the absence of any artificial means that could have favored the onset of arrhythmia. The short duration of AT episodes in our model was due to characteristic anatomical features of small animals. Reentrant arrhythmias have generally been considered to be restricted to large animals, because the generation and maintenance of reentrant arrhythmias require a minimum tissue mass (>100–200 mm<sup>3</sup>) (10). Consequently, to date, reentrant arrhythmias are often considered impossible in small rodents, since the myocardial mass of rats and mice is <35 mm<sup>3</sup>, too small to sustain multiple reentrant wavelets. Accordingly, in SHRs, most episodes of AT spontaneously reversed to sinus

rhythm, usually after a small number of arrhythmic beats; this confirmed that the role of a critical myocardial mass cannot be underestimated.

Despite this relative limitation, our model closely resembled the human presentation of arrhythmia. The spontaneous occurrence of AT in aging, hypertensive subjects corresponded to clinical observations that linked AT with aging and high blood pressure (1, 16, 17). In the Manitoba study, the prevalence of hypertension among patients with AF was 53% and the estimated risk of AF was 1.42 times higher in hypertensive than in normotensive subjects (17). The Framingham Heart Study reported a 1.9-fold higher risk of AF in hypertensive than in normotensive individuals (15). Frequent PACs have also been reported in hypertensive patients and in elder subjects (28). The inter-individual variability in the number of AT episodes in the 24-h recordings further supported the close resemblance between this model and the human presentation of AT.

**The autonomic nervous system.** It was previously proposed that sympatho-vagal imbalance could facilitate atrial arrhythmias. A number of clinical and experimental studies have provided evidence that the autonomic nervous system plays a crucial role in the pathophysiology of AF. Coumel (8) described different types of AF resulting from increased vagal or adrenergic tone. A number of studies have amassed evidence for an enhanced vagal tone in AT (5, 11, 29, 32). In a study by Patterson et al. (24), application of acetylcholine shortened the action potential duration in pulmonary veins and induced early-after-depolarizations, whereas simultaneous infusion of acetylcholine and norepinephrine triggered tachycardia-pause rapid firing in the same preparations. Those authors also demonstrated that combined parasympathetic and sympathetic nerve stimulation triggered firing in canine pulmonary veins (25). Chen and colleagues (6) used extrinsic and intrinsic cardiac nerve activity recordings in ambulatory dogs and applied intermittent rapid left atrial pacing to induce paroxysmal AF or AT. Their results suggested that intrinsic cardiac nerve activation, alone or associated with extrinsic cardiac nerve activation, could invariably trigger paroxysmal AT. Along the same lines, Tan et al. (27) reported that simultaneous sympatho-vagal discharges were common triggers for spontaneous atrial arrhythmias, and cryoablation of extrinsic sympatho-vagal nerves eliminated these episodes; those results suggested a causal relationship between the discharges and the occurrence of arrhythmia (27).

In the present study, HF components, an index of parasympathetic modulation, did not differ between aging SHRs, which presented numerous episodes of AT, and age-matched WKY rats, which did not experience AT. However, LF components

Table 3. Blood pressure values in aging WKY rats and aging SHRs

Variables	WKY rats	SHRs	P Value
<i>n</i>	4	5	
Blood pressure, mmHg			
Systolic	135 ± 2	236 ± 7	0.02
Diastolic	90 ± 0.4	171 ± 8	0.02
Mean	107 ± 0.5	199 ± 8	0.02
Pulse pressure, mmHg	46 ± 2	65 ± 5	0.03

Values are means ± SE. *P* values refer to comparisons between groups based on the Mann-Whitney U test.



were significantly reduced in aging SHR rats compared with those in WKY rats, and the LF-to-HF ratio was significantly smaller in aging SHR rats than in WKY rats. Given that the LF-to-HF ratio is an index of parasympathetic and sympathetic interactions in the rat heart (18), our results highlighted a significant sympatho-vagal imbalance in animals that experienced AT. The reduction of sympathetic tone, and therefore, the relative vagal hyperactivity, appeared to facilitate the occurrence of arrhythmias. In our model, reduced sympathetic tone appeared to result from persistent hypertension, but both aging and high blood pressure appeared to affect the sympatho-vagal balance.

Acute changes in autonomic tone that preceded the onset of AT episodes were difficult to assess, due to the fact that the AT episodes occurred during periods of intense arrhythmic activity (frequent PACs). Consequently, most of the HRV analysis was actually performed on intervals immediately preceding periods of frequent PACs rather than actual AT episodes. This could have influenced our results. Therefore, although frequency-domain parameters showed no acute changes before the onset of arrhythmic episodes, these results should be interpreted with caution; the role of the autonomic nervous system should not be oversimplified based on these results.

Emotional stress restored the autonomic balance by increasing sympathetic tone and had marked antiarrhythmic effects. Indeed, in aging SHR rats, the LF-to-HF ratio increased during stress compared with the baseline value, despite unchanged LF values. However, given the reduction in total HR variance in aging SHR rats during stress (decreased root-mean-square of successive RR-interval differences and pNN5), it is not surprising that the absolute values of LF did not significantly change.

In aging SHR rats, carbamylcholine had marked pro-arrhythmic effects. This was shown by the increased number of PACs and AT episodes and the significantly longer duration of AT episodes following carbamylcholine administration compared with baseline recordings. Unfortunately, HRV analysis after carbamylcholine administration could not be achieved, due to the increased number of arrhythmic events. However, based on the well-known effects of the stress protocol (pure sympathetic stimulation), the known parasympathetic effect of carbamylcholine, and the opposite effects induced by stress and carbamylcholine on atrial arrhythmogenicity, it appears that accentuating the autonomic imbalance by further increasing vagal tone enhances even more atrial arrhythmogenicity in this setting.

As suggested by the absence of AT episodes in young SHR rats, despite the decreased LF-to-HF ratio, the presence of an autonomic imbalance did not appear to be sufficient for inducing AT. Indeed, LF-to-HF ratio was altered more in aging SHR rats than in young SHR rats; this suggested that autonomic imbalance became more severe with advancing age. However, other features, such as anatomical remodeling with extensive atrial fibrosis, abnormal distribution and/or density of autonomic nerves within the atria, or molecular abnormalities, may also act as arrhythmia facilitators in this model. The role of atrial fibrosis in atrial arrhythmogenicity was previously reported in senescent normotensive rats (22).

**Potential limitations.** Based solely on the results from a surface ECG recording, a junctional origin of arrhythmias cannot be excluded. However, rapid ectopic activity arising from the atrio-ventricular node or His bundle has only been reported in special circumstances, including recent cardiac surgery or acute myocardial infarction, but not in patients with

hypertension alone, and, to the best of our knowledge, has never been reported in rats. Additionally, the presence of relatively long PQ intervals during arrhythmic episodes that presented atrial waves and the continual changes in the morphology of atrial waves during those episodes strongly support the diagnosis of multifocal AT and not of a tachycardia originating from a single subsidiary pacemaker.

The protocols used in this study provide only indirect evidence of autonomic imbalance in SHR rats that presented atrial arrhythmias. Additional functional studies are required to quantify the extent of abnormal sympatho-vagal imbalance and its precise role in atrial arrhythmogenicity.

## Conclusions

This study reports the occurrence of unprovoked episodes of atrial arrhythmia in hypertensive rats, and their increased incidence with aging. Our results suggest that autonomic imbalance with relative vagal hyperactivity may be responsible for the increased atrial arrhythmogenicity observed in this model. We also provide evidence that, in this model, the sympatho-vagal imbalance preceded the occurrence of arrhythmia. This work represents a potentially useful, new experimental model of atrial arrhythmias that may facilitate studies of pathophysiological mechanisms involved in atrial arrhythmias, including AF. Additional functional, anatomic-histological, and molecular studies in this setting will be of interest.

## ACKNOWLEDGMENTS

We thank Michel Beylot from the ANIPHY facility for offering the facilities needed for ECG recordings. Present address for Valérie Oréa: Institut de Biologie et Chimie des Protéines, FRE 3310 CNRS/Université Claude Bernard Lyon1, 7 passage du Vercors, 69367 Lyon cedex 07, France.

## GRANTS

Alina Scridon held a doctoral fellowship from la Région Rhône-Alpes.

## DISCLOSURES

No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the author(s).

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

Author contributions: A.S., C.J., and P.C. conception and design of research; A.S., V.O., N.L., and A.T. performed experiments; A.S., C.G., M.M.A., V.O., B.C., N.L., and A.T. analyzed data; A.S., C.G., B.C., A.T., G.C., C.B., C.J., and P.C. interpreted results of experiments; A.S. and B.C. prepared figures; A.S. drafted manuscript; A.S., C.G., M.M.A., V.O., B.C., N.L., A.T., G.C., C.B., C.J., and P.C. approved final version of manuscript; C.G., M.M.A., V.O., B.C., N.L., A.T., G.C., C.B., C.J., and P.C. edited and revised manuscript.

## REFERENCES

1. Allesie MA, Boyden PA, Camm AJ, Kléber AG, Lab MJ, Legato MJ, Rosen MR, Schwartz PJ, Spooner PM, Van Wagoner DR, Waldo AL. Pathophysiology and prevention of atrial fibrillation. *Circulation* 103: 769–777, 2001.
2. Aubert AE, Ramaekers D, Beckers F, Breem R, Denef C, Van de Werf F, Ector H. The analysis of heart rate variability in unrestrained rats. *Validation of methods and results Comput Methods Programs Biomed* 60: 197–213, 1999.
3. Benjamin EJ, Chen PS, Bild DE, Mascette AM, Albert CM, Alonso A, Calkins H, Connolly SJ, Curtis AB, Darbar D, Ellinor PT, Go AS, Goldschlager NF, Heckbert SR, Jalife J, Kerr CR, Levy D, Lloyd-Jones DM, Massie BM, Nattel S, Olgin JE, Packer DL, Po SS, Tsang TS, Van Wagoner DR, Waldo AL, Wyse DG. Prevention of atrial fibrillation: report from a national heart, lung, and blood institute workshop. *Circulation* 119: 606–618, 2009.

4. **Burke SL, Head GA.** Cardiac and renal baroreflex control during stress in conscious renovascular hypertensive rabbits: effect of rilmenidine. *J Hypertens* 27: 132–141, 2009.
5. **Chen YJ, Chen SA, Tai CT, Wen ZC, Feng AN, Ding YA, Chang MS.** Role of atrial electrophysiology and autonomic nervous system in patients with supraventricular tachycardia and paroxysmal atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 32: 732–738, 1998.
6. **Choi EK, Shen MJ, Han S, Kim D, Hwang S, Sayfo S, Piccirillo G, Frick K, Fishbein MC, Hwang C, Lin SF, Chen PS.** Intrinsic cardiac nerve activity and paroxysmal atrial tachyarrhythmia in ambulatory dogs. *Circulation* 121: 2615–2623, 2010.
7. **Chugh SS, Blackshear JL, Shen WK, Hammill SC, Gersh BJ.** Epidemiology and natural history of atrial fibrillation: clinical implications. *J Am Coll Cardiol* 37: 371–378, 2001.
8. **Coumel P.** Neural aspects of paroxysmal atrial fibrillation. In: *Atrial fibrillation: Mechanisms and Management*, edited by Falk RH, Prodrig PJ. New York/NY: Raven Press, 1992, pp. 109–125.
9. **Fuster V, Rydén LE, Cannom DS, Crijns HJ, Curtis AB, Ellenbogen KA, Halperin JL, Le Heuzey JY, Kay GN, Lowe JE, Olsson SB, Prystowsky EN, Tamargo JL, Wann S; Task Force on Practice Guidelines, American College of Cardiology/American Heart Association; Committee for Practice Guidelines, European Society of Cardiology; European Heart Rhythm Association; Heart Rhythm Society.** ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for the management of patients with atrial fibrillation-executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2001 Guidelines for the Management of Patients with Atrial Fibrillation). *J Am Coll Cardiol* 48: e149–e246, 2006.
10. **Garrey WE.** The nature of fibrillary contraction of the heart. *Its relations to tissue mass and form* *Am J Physiol* 33: 397–414, 1914.
11. **Hainsworth R.** Reflexes from the heart. *Physiol Rev* 71: 617–658, 1991.
12. **Haugan K, Lam HR, Knudsen CB, Petersen JS.** Atrial fibrillation in rats induced by rapid transesophageal atrial pacing during brief episodes of asphyxia: a new in vivo model. *J Cardiovasc Pharmacol* 44: 125–135, 2004.
13. **Kanbar R, Chapuis B, Oréa V, Barrès C, Julien C.** Baroreflex control of lumbar and renal sympathetic nerve activity in conscious rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 295: R8–R14, 2008.
14. **Kanbar R, Oréa V, Barrès C, Julien C.** Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity during air-jet stress in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292: R362–R367, 2007.
15. **Kannel WB, Abbott RD, Savage DD, McNamara PM.** Epidemiologic features of chronic atrial fibrillation: the Framingham study. *N Engl J Med* 306: 1018–1022, 1982.
16. **Kannel WB, Wolf PA, Benjamin EJ, Levy D.** Prevalence, incidence, prognosis, and predisposing conditions for atrial fibrillation: population based estimates. *Am J Cardiol* 82: 2N–9N, 1998.
17. **Krahn AD, Manfreda J, Tate RB, Mathewson FA, Cuddy TE.** The natural history of atrial fibrillation: incidence, risk factors, and prognosis in the Manitoba Follow-Up Study. *Am J Med* 98: 476–484, 1995.
18. **Kuwahara M, Yayou KI, Ishii K, Hashimoto SI, Tsubone H, Sugano S.** Power spectral analysis of heart rate variability as a new method for assessing autonomic activity in the rat. *J Electrocardiol* 27: 333–337, 1994.
19. **Levy MN, Martin PJ.** Neural control of heart rate and atrioventricular conduction. In: *Disturbances in Neurogenic Control of the Circulation*, edited by Abboud FM, Fozzard HA, Gilmore JP, Reis DJ. Bethesda/MD: American Physiological Society, 1981, pp. 205–215.
20. **Lombardi F, Colombo A, Basilico B, Ravaglia R, Garbin M, Vergani D, Battezzati PM, Fiorentini C.** Heart rate variability and early recurrence of atrial fibrillation after electrical cardioversion. *J Am Coll Cardiol* 37: 157–162, 2001.
21. **Nattel S, Khairy P, Roy D, Thibault B, Guerra P, Talajic M, Dubuc M.** New approaches to atrial fibrillation management: a critical review of a rapidly evolving field. *Drugs* 62: 2377–2397, 2002.
22. **Ono N, Hayashi H, Kawase A, Lin SF, Li H, Weiss JN, Chen PS, Karagueuzian HS.** Spontaneous atrial fibrillation initiated by triggered activity near the pulmonary veins in aged rats subjected to glycolytic inhibition. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292: H639–H648, 2007.
23. **Pan J, Tompkins WJ.** A real-time QRS detection algorithm. *IEEE Trans Biomed Eng* 32: 230–236, 1985.
24. **Patterson E, Lazzara R, Szabo B, Liu H, Tang D, Li YH, Scherlag BJ, Po SS.** Sodium-calcium exchange initiated by the  $Ca^{2+}$  transient: an arrhythmia trigger within pulmonary veins. *J Am Coll Cardiol* 47: 1196–1206, 2006.
25. **Patterson E, Po SS, Scherlag BJ, Lazzara R.** Triggered firing in pulmonary veins initiated by in vitro autonomic nerve stimulation. *Heart Rhythm* 2: 624–631, 2005.
26. **Shimizu W, Tsuchioka Y, Karakawa S, Nagata K, Mukai J, Yamagata T, Matsuura H, Kajiyama G, Matsuura Y.** Differential effect of pharmacological autonomic blockade on some electrophysiological properties of the human ventricle and atrium. *Br Heart J* 71: 34–37, 1994.
27. **Tan AY, Zhou S, Ogawa M, Song J, Chu M, Li H, Fishbein MC, Lin SF, Chen LS, Chen PS.** Neural mechanisms of paroxysmal atrial fibrillation and paroxysmal atrial tachycardia in ambulatory canines. *Circulation* 118: 916–925, 2008.
28. **Tasaki H, Serita T, Ueyama C, Kitano K, Seto S, Yano K, Camm AJ.** Longitudinal age-related changes in 24-hour total heart beats and premature beats and their relationship in healthy elderly subjects. *Int Heart J* 47: 549–563, 2006.
29. **Thorén P.** Role of cardiac vagal C-fibers in cardiovascular control. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 86: 1–94, 1979.
30. **Wakimoto H, Maguire CT, Kovoov P, Hammer PE, Gehrmann J, Triedman JK, Berul CI.** Induction of atrial tachycardia and fibrillation in the mouse heart. *Cardiovasc Res* 50: 463–473, 2001.
31. **Waxman MB, Cameron DA, Wald RW.** Interactions between the autonomic nervous system and supraventricular tachycardia in humans. In: *Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside*, edited by Zipes DP, Jalife J. Philadelphia: WB Saunders, 1995, pp. 699–722.
32. **Waxman MB, Sharma AD, Cameron DA, Huerta F, Wald RW.** Reflex mechanisms responsible for early spontaneous termination of paroxysmal supraventricular tachycardia. *Am J Cardiol* 49: 259–272, 1982.
33. **Zhang ZQ, Julien C, Barrès C.** Baroreceptor modulation of regional haemodynamic responses to acute stress in rat. *J Auton Nerv Syst* 60: 23–30, 1996.

## 5. Détection automatique des arythmies atriales fondée sur l'analyse des intervalles RR chez le rat vigilant

**Article :** Automatic Atrial Arrhythmia Detection Based on RR Interval Analysis in Conscious Rats

Gallet C, Chapuis B, Oréa V, Scridon A, Barrès C, Chevalier P, Julien C.

*Cardiovasc Eng Technol* 4 : 535–543, 2013.

La méthode téléométrique rend possible l'enregistrement de variables physiologiques de manière continue pendant de longues durées chez plusieurs animaux simultanément. Cependant, l'analyse de la grande quantité de données ainsi produite peut poser des problèmes, notamment lorsque cette analyse s'intéresse à des événements singuliers et pas seulement à des valeurs moyennes, par exemple. Dans notre étude, la mesure téléométrique de l'ECG a été utilisée pour identifier des épisodes de TA chez le rat à partir d'enregistrements de 24 h. Avec cet objectif particulier, l'analyse visuelle de la totalité des enregistrements s'est très vite avérée obligatoire du fait de la très grande variabilité d'occurrence des arythmies. Le temps nécessaire à cette analyse étant incompatible avec les nouvelles expérimentations projetées, il est apparu indispensable de développer une procédure automatique de détection des arythmies.

De nombreuses méthodes de détection existent chez l'Homme, mais ces méthodes ne sont pas adaptées aux caractéristiques des épisodes de TA chez le rat, qui ont généralement une durée inférieure à une seconde. De plus, l'enregistrement téléométrique présente régulièrement des artéfacts, ce qui empêche l'identification de la totalité des ondes P.

---

C'est pourquoi une méthode automatique originale de reconnaissance des arythmies atriales, fondée sur l'analyse de la série temporelle des intervalles RR, a été développée chez le rat vigil. Des enregistrements de 24 h ont été analysés chez 5 rats SHR aux âges de 26, 30, 34, 38, 42 et 46 semaines. Les ondes R étaient détectées à partir d'un algorithme adapté de celui présenté dans l'étude de Pan & Tompkins (1985). Comme nos signaux ECG présentaient des artéfacts qui conduisaient fréquemment à des détections erronées d'intervalles RR, une procédure automatique de détection des artéfacts a été proposée. Ensuite, l'algorithme de détection d'arythmies a été conçu à partir d'une structure d'automate, prenant en signal d'entrée la série des intervalles RR et classant chaque battement comme normal, arythmique ou comme pause compensatrice. La procédure de détection des artéfacts a permis de supprimer la plus grande partie des ondes R erronées. Les enregistrements ECG présentaient une très grande variabilité du nombre d'arythmies atriales, mais le nombre de battements arythmiques augmentait avec l'âge. L'algorithme de détection des arythmies présente une très bonne performance, qui est peu réduite par l'élimination automatique des artéfacts, par rapport à leur élimination visuelle.

En conclusion, nous proposons une méthode performante pour détecter les épisodes de TA sur des enregistrements ECG de longue durée chez le rat. Cet algorithme est fondé sur l'analyse de la série temporelle des intervalles RR, ce qui permet une détection sur des signaux bruités.

# Automatic Atrial Arrhythmia Detection Based on RR Interval Analysis in Conscious Rats

CLÉMENT GALLET, BRUNO CHAPUIS, VALÉRIE ORÉA, ALINA SCRIDON, CHRISTIAN BARRÈS,  
PHILIPPE CHEVALIER, and CLAUDE JULIEN

Unité de Neurocardiologie, Université Lyon 1, 8 av. Rockefeller, Lyon 69008, France

(Received 3 January 2013; accepted 6 May 2013; published online 16 May 2013)

Associate Editor Ajit P. Yoganathan oversaw the review of this article.

**Abstract**—Telemetry devices for electrocardiographic (ECG) recording in conscious rats make it possible to obtain long-lasting recordings over extended periods of time, which raises the need for an automatic arrhythmia detection procedure. Numerous algorithms of arrhythmia detection have been developed for analyzing human ECG data. These algorithms, however, are not well suited for recordings characterized by nonsustained arrhythmias and variable QRS morphology, hence the need for a new algorithm. In 5 spontaneously hypertensive rats, 24-h ECG recordings were obtained once a month, from 6 to 11 months of age. A common algorithm detected R peaks, and artifacts were discarded either visually or by using an automatic procedure. All atrial and ventricular tachyarrhythmias were visually assessed. Using RR interval time series, automatic identification of tachyarrhythmias was performed by a fuzzy automaton. Parameters of the automaton were optimized using a cross-validation technique. The thirty 24-h recordings yielded a total of 161,615 atrial arrhythmic beats and 5186 ventricular arrhythmic beats. The automatic procedure provided a high sensitivity (0.89) and positive predictive value (0.91). This new algorithm is appropriate for telemetric recordings of ECG in rats, and allows a fully automatic, computationally efficient procedure for arrhythmia detection with a good performance.

**Keywords**—Atrial tachyarrhythmia, Automated analysis, Fuzzy automaton, RR interval signal.

## INTRODUCTION

Radiotelemetric devices are commonly used in rodents to assess long-term effects of various interventions or pharmacological treatments on cardiovascular variables such as arterial blood pressure or heart rate. The radiotelemetry technique makes it possible to

obtain repeated measurements over extended periods of time in conscious, fully unrestrained animals maintained in their usual environment. A corollary of this technique is that the investigator has to deal with a huge amount of data. We have recently used this methodology to identify episodes of unprovoked atrial tachyarrhythmia (AT) from 24-h electrocardiographic (ECG) recordings in aging spontaneously hypertensive rats (SHR).<sup>13</sup> In the latter study, ECG data were visually inspected by two well-trained investigators to ascertain the presence of AT episodes, including atrial fibrillation and multifocal atrial tachycardia. We found it necessary to analyze the totality of the 24-h recordings because of the large variability of AT occurrence throughout the day. This extremely time-consuming procedure prompted us to develop an automatic method for characterizing the arrhythmic profile over long periods of time in conscious rats.

Numerous algorithms have been developed to address the issue of automatic cardiac arrhythmia detection in humans. Most of them can be classified in two categories:

- Algorithms that classify each beat, according to its morphology. This approach allows the investigator to detect various arrhythmias, such as ventricular or atrial premature beats, right or left bundle branch block beats, paced beats,<sup>6</sup> congestive heart failure beats,<sup>16</sup> non-conducted P-waves.<sup>3</sup>
- Algorithms that classify ECG sequences (usually a fixed number of beats) as sinus rhythm or atrial fibrillation, by computing several statistical indices of the RR interval time series. Examples of such indices include standard time domain indices (SDNN, RMSSD),<sup>17</sup> Shannon entropy<sup>2</sup> or sparseness of RdR plot.<sup>8</sup>

Address correspondence to Clément Gallet, Unité de Neurocardiologie, Université Lyon 1, 8 av. Rockefeller, Lyon 69008, France. Electronic mail: clement.gallet@univ-lyon1.fr



Both approaches are not suitable for detecting AT episodes in rats. In contrast with premature ventricular beats, the QRS complexes corresponding to ectopic atrial beats are similar to QRS complexes driven by sinus beats. Moreover, P waves frequently exhibit very low amplitudes and sometimes are not even distinct from isoelectric noise. Therefore, any analysis based solely on wave (QRS complex or P wave) morphology would be unable to identify all ectopic atrial beats. On the other hand, algorithms classifying ECG sequences need a minimal number of RR intervals to accurately compute the statistical indices. Studies report using 64 or 128 beats for an optimal accuracy,<sup>2,8,17</sup> and reducing the length of sequences lowers the performance of the detection. In rats, however, AT episodes are mostly composed of very short sequences ( $<1$  s on average),<sup>13</sup> so that algorithms that classify ECG sequences as normal or arrhythmic would miss a lot of short-lasting episodes.

Thus, a new algorithm was required to detect AT in telemetric recordings of ECG in rats. The proposed algorithm only relies on RR intervals, because, as mentioned above, P waves cannot be safely identified in the whole recording, as opposed to QRS complexes which are the most robust feature that can be extracted from the ECG signal. Nevertheless, because of noise in the ECG signal, an automatic procedure was also needed to remove misclassified QRS complexes.

The algorithm has an automaton structure that classifies each beat as normal or arrhythmic, based on the RR interval time series. This structure is often used to find patterns in series, and as it acts in one pass, it requires a very low computation time.<sup>1</sup> In this study, the automaton was set to detect sequences of reduced RR intervals followed by a longer RR interval, which characterizes arrhythmic beat sequences. Under the strict conditions of the automaton, however, RR interval patterns formed by arrhythmic beats were not always discriminated from normal RR interval sequences. By using a fuzzy automaton, where strict conditions are replaced by probabilities, we aimed at improving arrhythmia detection.

## MATERIALS AND METHODS

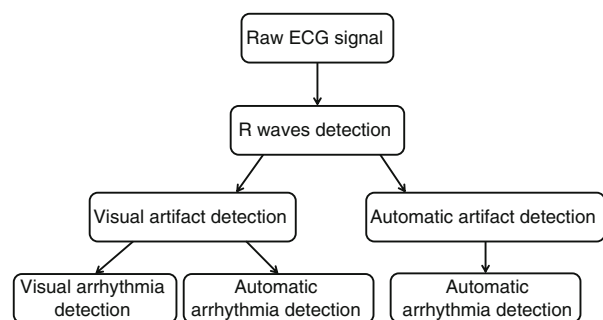
### Data Collection

Details of surgical procedures can be found in Scridon *et al.*<sup>13</sup> Briefly, male SHR<sub>s</sub> ( $n = 5$ ) were purchased from Elevage Janvier (Le Genest Saint Isle, France). All experiments were performed in compliance with the French Ministry of Agriculture guidelines for animal experimentation, and were approved by the local Animal Ethics Committee. Radiotelemetry

ECG transmitters (TA11 CA-F40; Data Sciences International, St. Paul, MN) were implanted under isoflurane anesthesia at least one week before starting recordings. Continuous 24-h ECG recordings were performed once a week at the ages of 26, 30, 34, 38, 42 and 46 weeks, which makes a total of 30 recordings. ECG signals were sampled at 2000 Hz and stored on hard drive. The different procedures are schematized in Fig. 1 and detailed below.

### R Waves Detection

All analysis tools were developed using LabVIEW 2010 software (National Instruments, Austin, TX). R waves were automatically detected using an algorithm adapted from Pan and Tompkins.<sup>11</sup> ECG signals were first transformed by a second-order Butterworth low-pass filter (125 Hz) to suppress high frequency noise. This was followed by a numerical differentiation to emphasize QRS complexes, which have sharp slopes, as opposed to P and T waves. The signal was then squared to obtain only positive values and to prepare for peak detection. However, as several peaks could be observed within a single QRS complex, the signal was smoothed by low-pass filtering (25 Hz). Cutoff frequencies were adapted from the original study in humans<sup>11</sup> to the rat ECG characteristics. Local maxima were noted on the filtered signal and validated as QRS complexes if their amplitude was higher than 15% of the median amplitude of the 5 preceding QRS complexes. If no QRS complexes were detected during one second, then the amplitude threshold was reset to the mean of the full signal calculated over that second. Finally, R waves were located on the original, non-filtered ECG as local maxima within a window of 20 ms before a QRS complex in the filtered signal (to take into account the phase shift introduced by low-pass filtering). RR interval time series were calculated as the time difference between two consecutive R waves.



**FIGURE 1.** Schematic diagram of the different procedures applied to ECG signals.

### Artifact Detection

As the algorithm identifying atrial beats relies heavily on the accuracy of RR interval determination, falsely detected R waves had to be discarded before any further analysis. All ECG recordings were visually inspected and misclassified R waves were identified. R waves obtained after removing misclassified R waves were referred to as visual R waves.

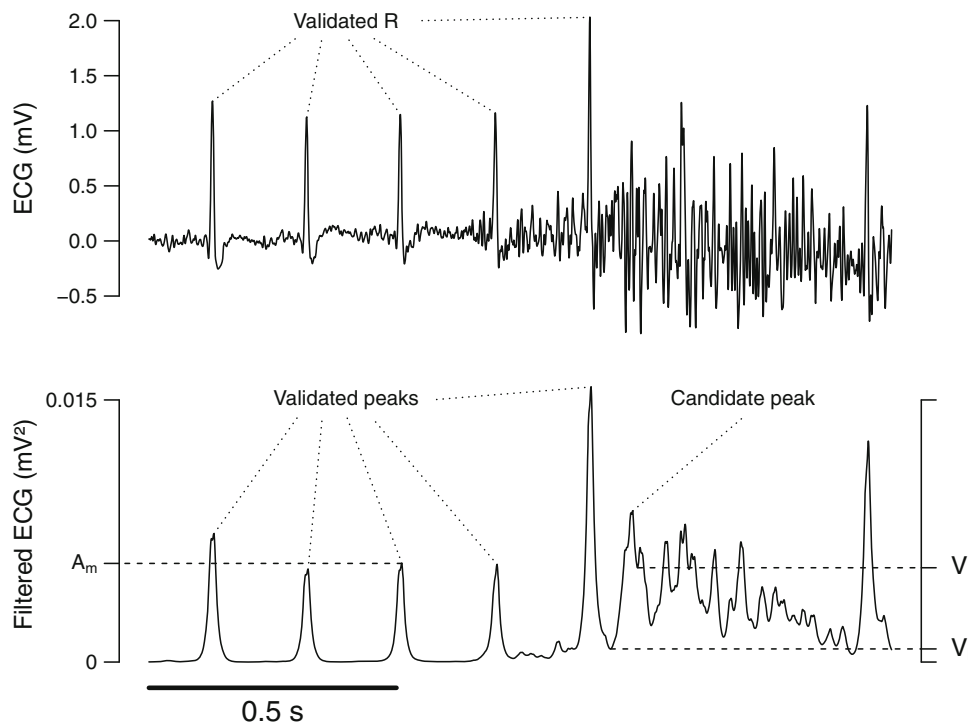
For the purpose of a fully automatic procedure, misclassified R waves had to be automatically removed. Most misclassified R waves are due to movement artifacts, and appear as rapid and large variations of the ECG signal, frequently lasting several tenths of a second. During these periods, the filtered ECG is at a higher level (as observed after differentiation) and contains less distinct peaks than during a normal period (Fig. 2). To detect misclassified R waves, two indices were computed for each peak in the filtered ECG signal during the detection of R waves:

- the *amplitude ratio* ( $AR$ ), taken as the ratio between the amplitude of the peak and the median of the five preceding peaks. As we were only interested in the magnitude of the variation and not in its direction, we chose the inverse ratio if the ratio was  $< 1$ .

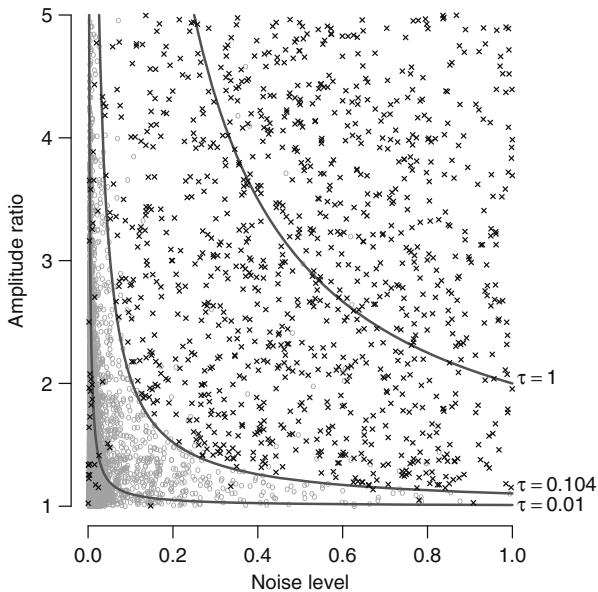
- the *noise level* ( $NL$ ), taken as the ratio between the largest amplitude of the valleys on either side of the peak and the amplitude of the peak (Fig. 2).

Figure 3 plots the values of both indices for every detected R wave from a 24-h ECG recording. Real and misclassified R waves were present in mostly distinct areas of the plot, so that a condition based on both indices could be defined to discard most misclassified R waves and only few real R waves. Based on the distribution of real and misclassified R waves, the inverse curve  $AR = (\tau/NL) + 1$  efficiently classified R waves, using a single parameter  $\tau$ . All R waves above the curve were removed and the corresponding RR intervals were removed from the RR time series. The obtained R waves were referred to as automatic R waves.

For each recording, the value of  $\tau$  was chosen so as to maximize the performance of the classification in that recording. Performance was defined as the percentage of removed misclassified R waves among all removed and all misclassified R waves. This index takes values between 0 (no misclassified R waves are removed) and 1 (all and only misclassified R waves are removed). The mean of all  $\tau$  values was used for further analyses.



**FIGURE 2.** Example of detection of misclassified R waves. Raw and filtered 1.5-s ECG signals are shown, along with 5 validated R waves. To validate the next peak on the filtered ECG, the amplitude ratio was computed as the ratio between the amplitude of the peak and the median amplitude of the 5 preceding peaks ( $A_m$ ), and the noise level was computed as the ratio between the largest amplitude of the valleys on either side of the peak ( $V_l$  and  $V_r$ ) and the amplitude of the peak.



**FIGURE 3.** Plot of the values of amplitude ratio and noise level for all detected R waves in a 24-h ECG recording. From a 24-h ECG recording, 443,209 R waves were automatically detected, of which 2050 were misclassified R waves and are shown by black crosses. Real R waves are shown by gray open circles. Amplitude ratio ( $AR$ ) and noise level ( $NL$ ) were calculated for every R wave and were plotted. Only  $AR$  values between 1 and 5 are shown for legibility. The inverse curve  $AR = (\tau/NL) + 1$ , plotted for three different values of  $\tau$  (0.01, 0.104 and 1), separates most misclassified R waves from real R waves. For  $\tau = 0.104$ , 2,008 misclassified R waves are removed (98%), while only 75 real R waves are removed which corresponds to 0.017% of all real R waves.

#### Visual Arrhythmia Identification

All ECG recordings were visually screened by two experts, one of whom was a cardiologist. Cardiac beats were assigned to three categories: normal, atrial and ventricular beats. Ectopic atrial beats were defined based on the presence of premature, narrow QRS complexes. The definition also demanded that, when visible, atrial waves would be of noticeably different morphology compared to sinus rhythm P waves (Fig. 4). Premature ventricular beats were defined as premature, wide QRS complexes with quite different morphology from sinus beats (Fig. 4).

AT was defined as rapid, irregular, supraventricular rhythm (irregular ventricular response with narrow QRS complexes), of at least 3 beats. Ventricular tachycardia (VT) was defined as rapid ventricular rhythm (enlarged and distorted QRS complexes) of at least 3 beats.

Given that the purpose of this study was to identify atrial and ventricular tachyarrhythmias, other arrhythmic events, such as sinus pauses or atrioventricular blocks, were considered as normal beats.

Ectopic atrial and ventricular beats are referred to as arrhythmic beats in the following text.

#### Dispersion of Atrial Arrhythmias

The variability of occurrence of ectopic atrial beats was quantified over all 30 ECG recordings. For each 24-h recording, the number of ectopic atrial beats was counted over segments of length  $l$ . Each segment was shifted from the previous one by 1 min. The average number of ectopic atrial beats, standard deviation and coefficient of variation (CV) were computed. The mean ( $\pm$ SEM) CV of all recordings was computed with  $l$  varying from 1 min to 24 h. To compare against a sequence of randomly occurring ectopic atrial beats, this analysis was performed on the same recordings after ectopic atrial beats had been randomly shuffled following a uniform distribution.

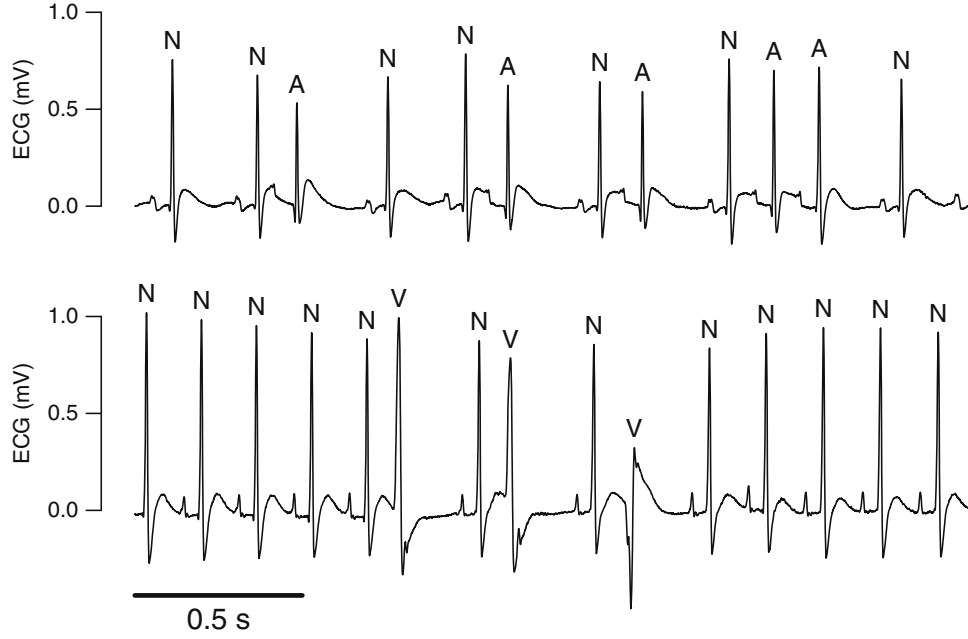
#### Automatic Arrhythmia Identification

Automatic detection of arrhythmia was performed by using an algorithm based on an automaton structure. This algorithm used the RR interval time series as the only input signal, and labeled each beat as normal ( $N$ ), arrhythmic ( $A$ ) or as a compensatory pause ( $P$ ), i.e., the pause following an arrhythmic beat.

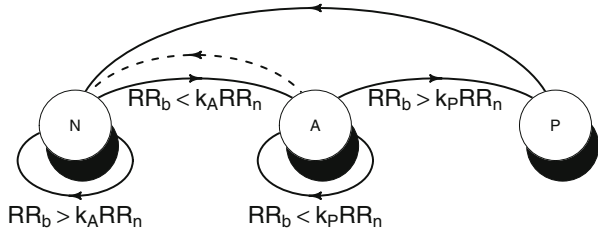
We first introduced a simple deterministic model, which served as the basis of the complete model. In this first model, the label of a beat  $b$  was determined based on (i) the label of the previous beat  $b - 1$ , (ii) the RR interval between beats  $b - 1$  and  $b$  ( $RR_b$ ), and (iii) a reference RR interval ( $RR_n$ ) computed as the median of the five preceding RR intervals between beats labeled as normal.  $RR_n$  reflected the current sinus rhythm.

An arrhythmic beat was characterized by a reduction of the RR interval compared to the sinus RR interval. The first rule was, therefore, that if beat  $b - 1$  was normal, then beat  $b$  was labeled as arrhythmic if  $RR_b < k_A RR_n$ , and normal otherwise, for a certain value of the coefficient  $k_A$ . In addition, a tachyarrhythmic event ends with a compensatory pause resulting in a RR interval larger than the sinus RR interval. So, if beat  $b - 1$  was arrhythmic, beat  $b$  was labeled as a pause if  $RR_b > k_P RR_n$ , and arrhythmic otherwise, for a certain value of the coefficient  $k_P$ . A last rule was needed to discriminate tachyarrhythmia from sinus tachycardia. If the last five beats were classified as arrhythmic and the coefficient of variation of the last five RR intervals was lower than a certain value of parameter  $C$ , then the whole arrhythmic sequence was changed to normal. A schematic version of this model is illustrated in Fig. 5.

One limitation of this simple model is the use of binary conditions. By converting continuous variables into binary variables, information is lost in the process. Based on this model, we elaborated a more complex



**FIGURE 4.** Examples of ectopic atrial and ventricular beats. Two 2.5-s ECG recordings from two different rats are shown. Cardiac beats are labeled as normal (N), atrial (A) or ventricular (V).



**FIGURE 5.** Simple automaton model for arrhythmia detection. The three states of the automaton (N, normal; A, arrhythmic; P, pause) are represented as circles, and transitions as arrows.  $RR_b$  is the current RR interval,  $RR_n$  is the median of the five preceding normal RR intervals, and  $k_A$  and  $k_P$  are parameters. The dashed arrow represents the case where sinus tachycardia is detected, which is considered as normal beats.

model using probabilities. Every beat  $b$  was given probabilities to belong to each state ( $p_N^b$ ,  $p_A^b$  and  $p_P^b$  respectively for normal, arrhythmic and pause states). Strict conditions on the first model were replaced by smooth conditions by using the logistic function  $H_s(x) = \frac{1}{1+e^{-2sx}}$ . This function was characterized by  $H_s(x) \approx 0$  for  $x \ll 0$  and  $H_s(x) \approx 1$  for  $x = 0$ , with  $s$  being the slope of the transition at  $x = 0$ .

The first rule of the simple model became:  $p_N^b|N^{b-1} = H_s(RR_b - k_A RR_n)$ , where  $p_N^b|N^{b-1}$  is the probability that beat  $b$  is normal given that beat  $b-1$  is normal, and  $p_A^b|N^{b-1} = 1 - p_N^b|N^{b-1}$ . The second rule became  $p_P^b|A^{b-1} = H_s(RR_b - k_P RR_n)$  and  $p_A^b|A^{b-1} = 1 - p_P^b|A^{b-1}$ . It is assumed that  $p_N^b|P^{b-1} = 1$ ,  $p_P^b|N^{b-1} = p_N^b|A^{b-1} = p_A^b|P^{b-1} = p_P^b|P^{b-1} = 0$ .

Using conditional probabilities, we derived the formula for  $p_N^b$ :

$$\begin{aligned} p_N^b &= p_N^{b-1} p_N^b|N^{b-1} + p_A^{b-1} p_N^b|A^{b-1} + p_P^{b-1} p_N^b|P^{b-1} \\ &= p_N^{b-1} H_s(RR_b - k_A RR_n) + p_P^{b-1} \end{aligned}$$

The other probabilities were computed using the same approach:

$$\begin{aligned} p_A^b &= p_N^{b-1} (1 - H_s(RR_b - k_A RR_n)) \\ &\quad + p_A^{b-1} (1 - H_s(RR_b - k_P RR_n)) \\ p_P^b &= p_A^{b-1} H_s(RR_b - k_P RR_n) \end{aligned}$$

After determining the probabilities for beat  $b$ , we still had to label the beat. We used the following rules:

- if  $p_N^b > 0.5$ , beat  $b$  was labeled as normal. We also set  $p_N^b = 1, p_A^b = p_P^b = 0$
- If  $p_P^b > 0.5$ , beat  $b$  was labeled as a pause. We also set  $p_N^b = 1, p_A^b = p_P^b = 0$
- Otherwise, beat  $b$  was labeled as arrhythmic

The algorithm was initialized as  $p_N^b = 1, p_A^b = p_P^b = 0$ . In addition, the first five beats were not labeled, and were considered as normal beats to compute  $RR_n$ .

#### Optimization of the Parameters

The previously described algorithm depends on the values of parameters  $k_A$ ,  $k_P$ ,  $s$  and  $C$ . These values



needed to be chosen so as to maximize the performance of the algorithm, estimated by the accuracy (Acc) of the identification, defined as  $\text{Acc} = \text{TP}/(\text{TP} + \text{FP} + \text{FN})$ . TP (true positives) was the number of correctly classified arrhythmic beats, FN (false negatives) was the number of arrhythmic beats classified as normal beats, and FP (false positives) was the number of normal beats classified as arrhythmic beats. Performance indices were given as sensitivity ( $\text{Se} = \text{TP}/(\text{TP} + \text{FN})$ ) and positive predictive value ( $+P = \text{TP}/(\text{TP} + \text{FP})$ ).

Because an exhaustive search for the best accuracy would require testing every combination of values for the 4 parameters, and thus, would be too time consuming, the maximization was performed by the Nelder–Mead method,<sup>10</sup> an optimization algorithm which relies on the evaluation over a small number of sets of parameters.

To correctly estimate the performance of the automatic arrhythmia identification, a strategy had to be carefully chosen. If the same dataset was used for both optimization of the parameters (training set) and evaluation (testing set), the performance would be overestimated as compared with the case where training and testing sets were distinct, which was the case in practice. For each rat, the testing set included all recordings of that rat while the training set included all other recordings. Training was performed using visual R waves. Testing was performed using both visual R waves, to evaluate the performance of the arrhythmia detection, and automatic R waves, to evaluate the performance of the full procedure. Results included sensitivity and positive predictive value, as previously defined.

#### Emotional Stress Protocol

At the age of 47 weeks, a mild emotional stress was evoked by blowing a jet of air into the cage for 20 min.<sup>13</sup> Only 4 rats could be analyzed due to signal loss in one of the recordings during the stress trial. Artifact detection and arrhythmia identification were performed on the 20-min ECG recordings, using the mean parameters computed earlier.

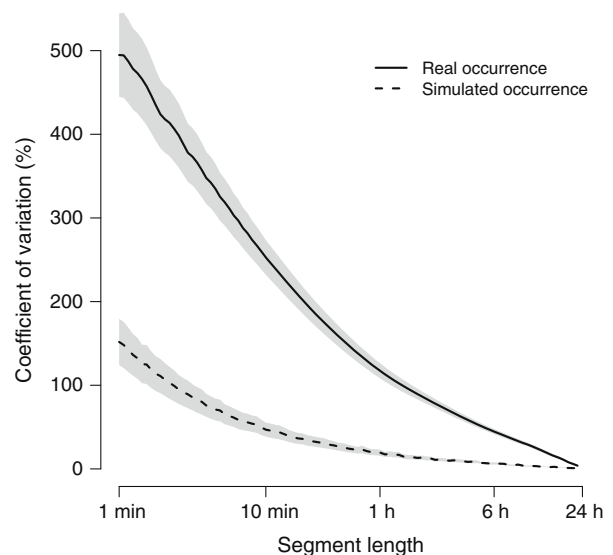
## RESULTS

After visual screening of all ECG recordings, a total of 164,921 misclassified R waves were identified. Using the automatic artifact detection, the mean value of  $\tau$  was  $0.104 \pm 0.007$  (range 0.037–0.168). Using this value, 141,470 misclassified R waves and 10,671 real R waves were removed, yielding an accuracy of 0.81. This value of  $\tau$  was used for further analyses.

Using a visual identification of arrhythmias, the total number of ectopic atrial beats was 161,615, ranging from 44 to 49,366 in 24-h recordings. In each rat, the number of ectopic atrial beats increased with age. The median number of ectopic atrial beats was 181 at the age of 26 weeks and 2952 at the age of 46 weeks. In addition, 10,013 AT episodes were identified with a range of 0–4223/24 h. Premature ventricular beats were much less frequent, with a total of 5186 beats and a range of 48–682/24 h, and only 25 VT episodes were identified (range 0–5/24 h). Premature ventricular beats were roughly classified into two groups, either with (29%) or without (71%) an R wave. Both types are shown in Fig. 4.

Occurrence of ectopic atrial beats was highly variable within 24-h recordings, resulting in a high variability in ectopic atrial beats count when restricting to shorter segments (Fig. 6). When considering a CV of 10%, at least 18 h from actual ECG recordings should be analyzed to estimate the total number of ectopic atrial beats, while only 3 h needed to be analyzed in the case of randomly occurring ectopic atrial beats.

Regarding the automatic arrhythmia detection, after the algorithm was trained for each rat, the mean ( $\pm$ SEM) values of the parameters were  $k_A = 0.897 \pm 0.002$ ,  $k_P = 0.958 \pm 0.002$ ,  $s = 4.05 \pm 0.26 \text{ ms}^{-1}$  and  $C = 3.96 \pm 0.10$ . Results of arrhythmia detection for each rat are shown in Table 1 when using visual R waves, and Table 2 when using automatic R waves. The overall



**FIGURE 6.** Plot of the coefficient of variation of the number of ectopic atrial beats depending on the length of the segment considered. Mean  $\pm$  SEM were computed over thirty 24-h ECG signals and are shown in grey. The solid line corresponds to the real occurrence of ectopic atrial beats, and the dashed line corresponds to the simulated occurrence after ectopic atrial beats have been randomly shuffled following a uniform distribution.

detection had a sensitivity of 0.91 and a positive predictive value of 0.94 when using visual R waves. When using automatic R waves, the sensitivity was 0.89 and positive predictive value was 0.91.

During emotional stress, 399 of the 445 misclassified R waves and 30 real R waves were removed, yielding an accuracy of 0.84. Using the mean values for each parameter, arrhythmia detection had a sensitivity of 0.88 and a positive predictive value of 0.97.

## DISCUSSION

The main result of this study is the description of a fully automatic procedure to detect R waves and to accurately identify AT sequences. This identification solely relies on the RR interval, a robust parameter, which allows analyzing noisy portions of the signal, while a morphology-based analysis would have been strongly affected by noise. The design of the algorithm, which goes through the RR interval time series in one pass, allows a very fast analysis ( $<10$  s for a 24-h ECG recording) making it suitable for online use. Long-lasting recordings can be analyzed using this algorithm, which is all the more important because spontaneous atrial arrhythmias in rats are heterogeneously scattered over time. By selecting small portions of recorded data, as reported in some studies,<sup>7,9</sup> the arrhythmic burden would be misestimated.

A previous study used a standard automaton to detect premature ventricular beats in human RR interval time series.<sup>14</sup> Parameters of the automaton were determined by medical experts, and as such, were not transferable to other species. Other studies used a fuzzy automaton based on the identification of atrial fibrillatory (f) waves to detect atrial fibrillation in humans.<sup>12,15</sup> These waves are absent or hardly visible in the case of AT episodes in rats. A recent study addressed the issue of arrhythmia detection in several species,<sup>7</sup> including the detection of ectopic atrial beats

in the rat. However, the number of ectopic atrial beats in the test database was small ( $n = 40$ ) and the detection of ectopic atrial beats was based on a user-specified threshold on RR interval reduction. The authors also reported difficulties in detecting P waves in rat ECG signals, especially due to noise and artifacts.

For detecting R waves, we used a standard derivative-based method, where parameters were easily adapted to the rat ECG characteristics. As our main concern was to accurately detect R waves of atrial arrhythmic beats, methods based on the shape of the QRS complex, such as wavelet-based methods, would have a worse performance on arrhythmic beats. The artifact detection algorithm, based on a single parameter, successfully removed most misclassified R waves. The optimal value of this parameter was steady across all 24-h ECG recordings. Thus, by taking the mean value for all recordings instead of the optimal value, the performance was almost as good.

In the present study, identification of arrhythmic beats when using visual R waves was affected by a small number of false positives and false negatives. False positives were usually encountered during periods of strong respiratory sinus arrhythmia, when variations of RR intervals were high enough to trigger arrhythmia detection. False positives were more rarely seen during reflex tachycardia following sinus pauses or second degree AV blocks. False negatives were mostly due to late ectopic atrial beats, when the reduction of the RR interval was modest.

The accuracy of arrhythmia detection when using automatic R waves was lower than when using visual R waves, due to both more false positives and more false negatives. False positives were mostly ECG artifacts that were not removed by the automatic artifact detection. This artifact detection procedure successfully removed most muscle artifacts as it was designed for that type of artifact. Electrical interferences and loss of ECG signal, although occurring rarely, accounted for a significant part of the remaining

**TABLE 1. Performance of the identification of arrhythmic beats using visually detected R waves.**

	SHR1	SHR2	SHR3	SHR4	SHR5	Total
Counts						
TP	27,895	26,096	34,942	61,501	1227	151,661
FN	2238	2259	6586	3930	127	15,140
FP	558	861	360	7172	537	9488
Indices						
Se	0.93	0.92	0.84	0.94	0.91	0.91
+P	0.98	0.97	0.99	0.90	0.70	0.94
Acc	0.91	0.89	0.83	0.85	0.65	0.86

For each rat, all six 24-h recordings were pooled. TP: True Positives (correctly classified arrhythmic beats); FN: False Negatives (arrhythmic beats classified as normal beats); FP: False Positives (normal beats classified as arrhythmic beats); Se: Sensitivity; +P: Positive predictive value; Acc: Accuracy.

**TABLE 2.** Performance of the identification of arrhythmic beats using automatically detected R waves.

	SHR1	SHR2	SHR3	SHR4	SHR5	Total
Counts						
TP	26,540	25,619	33,727	60,898	1005	147,789
FN	3593	2736	7801	4533	349	19,012
FP	1826	2002	1851	8006	1557	15,242
Indices						
Se	0.88	0.90	0.81	0.93	0.74	0.89
+P	0.94	0.93	0.95	0.88	0.39	0.91
Acc	0.83	0.84	0.78	0.83	0.35	0.81

For each rat, all six 24-h recordings were pooled. TP: True Positives (correctly classified arrhythmic beats); FN: False Negatives (arrhythmic beats classified as normal beats); FP: False Positives (normal beats classified as arrhythmic beats); Se: Sensitivity; +P: Positive predictive value; Acc: Accuracy.

undetected artifacts. More false negatives were also found using automatic R waves, but most of them were undetected premature ventricular beats. As the majority of premature ventricular beats had no R waves, they were usually skipped by the R wave detection algorithm and thus could not be automatically detected as arrhythmic beats. On the contrary, ectopic atrial beats were not affected by the automatic artifact removal, as 99.7% of ectopic atrial beats were associated with a validated R wave after that procedure (data not shown).

We used sensitivity and positive predictive value as indices of the performance of the algorithms, instead of the more common sensitivity/specificity. For arrhythmia detection, specificity corresponds to the proportion of normal beats classified as normal, and in our study, it always took very high values (range 0.998–1.000; data not shown), which makes this index irrelevant. We better characterized arrhythmia detection using positive predictive value, which indicates the proportion of true arrhythmic beats among detected arrhythmic beats. Most studies on arrhythmia detection compute the same indices,<sup>5,7</sup> although, as mentioned in Koepfel *et al.*,<sup>7</sup> the positive predictive value is strongly related to the prevalence of arrhythmia in ECG recordings. In the present study, the rat SHR5 showed very few arrhythmic beats compared to the other rats and the positive predictive value was much lower in this rat. This can be explained because the number of false positives, typically around 100 for a single 24-h recording, mainly due to artifacts, does not depend on the number of arrhythmic beats.

The main limitation of this method is its inability to discriminate between ectopic atrial and ventricular beats, as it is solely based on RR intervals. Accurate recognition of ventricular beats would have required a morphology analysis (i.e., the estimation of the width of the QRS complex). Although ventricular beats were present in every recording, VT episodes were very rare. Thus, by focusing on arrhythmic sequences of 3 beats and more, we ensured to almost only target atrial

tachyarrhythmia. It should be mentioned, however, that the performance of the algorithm in the presence of atrial fibrillation, *stricto sensu*, could not be evaluated in this study.

The full algorithm was also tested during an emotional stress induced by a jet of air. This protocol is known to increase the sympathetic tone,<sup>4</sup> leading to a higher heart rate. In addition, more ECG artifacts were present due to movements of rats. Under this condition, both the artifact detection and arrhythmia identification procedures showed similar performance compared to baseline recordings.

In conclusion, we propose an efficient method to automatically detect tachyarrhythmia in long-lasting ECG recordings from aging SHRs. This algorithm is based on RR intervals, which allows an accurate detection even from noisy signals.

## ACKNOWLEDGMENTS

We thank the ANIPHY platform for offering the facilities needed for ECG recordings. Present address for Valérie Oréa: Institut de Biologie et Chimie des Protéines, FRE 3310 CNRS/Université Claude Bernard Lyon 1, 7 passage du Vercors, 69367 Lyon cedex 07, France.

## REFERENCES

- <sup>1</sup>Cohen, D. I. A. Introduction to Computer Theory. John Wiley & Sons, 1996.
- <sup>2</sup>Dash, S., K. H. Chon, S. Lu, and E. A. Raeder. Automatic real time detection of atrial fibrillation. *Ann. Biomed. Eng.* 37:1701–1709, 2009.
- <sup>3</sup>Engin, M. ECG beat classification using neuro-fuzzy network. *Pattern Recognit. Lett.* 25:1715–1722, 2004.
- <sup>4</sup>Kanbar, R., V. Oréa, C. Barrès, and C. Julien. Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity during air-jet stress in rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 292:R362–R367, 2007.

- <sup>5</sup>Kara, S., and M. Okandan. Atrial fibrillation classification with artificial neural networks. *Pattern Recognit.* 40:2967–2973, 2007.
- <sup>6</sup>Kim, J., H. S. Shin, K. Shin, and M. Lee. Robust algorithm for arrhythmia classification in ECG using extreme learning machine. *Biomed. Eng. Online* 8:31, 2009.
- <sup>7</sup>Koeppel, F., D. Labarre, and P. Zitoun. Quickly finding a needle in a haystack: a new automated cardiac arrhythmia detection software for preclinical studies. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 66:92–97, 2012.
- <sup>8</sup>Lian, J., L. Wang, and D. Muessig. A simple method to detect atrial fibrillation using RR intervals. *Am. J. Cardiol.* 107:1494–1497, 2011.
- <sup>9</sup>Nadziejko, C., K. Fang, S. Narciso, M. Zhong, W. C. Su, T. Gordon, A. Nádas, and L. C. Chen. Effect of particulate and gaseous pollutants on spontaneous arrhythmias in aged rats. *Inhal. Toxicol.* 16:373–380, 2004.
- <sup>10</sup>Nelder, J. A., and R. Mead. A simplex method for function minimization. *Comput. J.* 7:308–313, 1965.
- <sup>11</sup>Pan, J., and W. J. Tompkins. A real-time QRS detection algorithm. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 32:230–236, 1985.
- <sup>12</sup>Rigatos, G. G. Fault detection and isolation based on fuzzy automata. *Inf. Sci. (Ny)*. 179:1893–1902, 2009.
- <sup>13</sup>Scridon, A., C. Gallet, M. M. Arisha, V. Oréa, B. Chapuis, N. Li, A. Tabib, G. Christé, C. Barrès, C. Julien, and P. Chevalier. Unprovoked atrial tachyarrhythmias in aging spontaneously hypertensive rats: the role of the autonomic nervous system. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 303: H386–H392, 2012.
- <sup>14</sup>Tsipouras, M. G., D. I. Fotiadis, and D. Sideris. An arrhythmia classification system based on the RR-interval signal. *Artif. Intell. Med.* 33:237–250, 2005.
- <sup>15</sup>Tumer, M. B., L. A. Belfore, and K. M. Ropella. Applying hierarchical fuzzy automata to automatic diagnosis. *Conf North American Fuzzy Inf Proc Soc.* 1998, pp. 315–319.
- <sup>16</sup>Übeyli, E. D. ECG beats classification using multiclass support vector machines with error correcting output codes. *Digit Signal Process.* 17:675–684, 2007.
- <sup>17</sup>Yaghoubi, F., A. Ayatollahi, R. Bahramali, M. Yaghoubi, and A. H. Alavi. Towards automatic detection of atrial fibrillation: a hybrid computational approach. *Comput. Biol. Med.* 40:919–930, 2010.



# Discussion

Le résultat principal de ce travail est la caractérisation d'un modèle animal de tachy-arythmies atriales (TA) spontanées, conjointement à une nouvelle méthode automatique d'analyse de l'ECG.

De nombreux modèles animaux ont été développés pour étudier les mécanismes responsables du déclenchement et de l'entretien de la fibrillation atriale (FA), et plus généralement, des TA, et évaluer différentes stratégies thérapeutiques (Nishida *et al.* 2010). Cependant, aucun de ces modèles ne réussit à reproduire fidèlement les arythmies rencontrées en clinique humaine. En particulier, dans tous les modèles animaux, les arythmies sont soit induites par des stimulations électriques du cœur, soit provoquées par des interventions pharmacologiques. Les remodelages structuraux, électriques, ou nerveux associés aux épisodes de TA dans ces travaux apparaissent assez largement différents des observations faites chez l'Homme. Un modèle expérimental de TA spontanées chez l'animal restait donc à décrire.

Le modèle animal choisi combine deux facteurs de risque majeurs de la FA, le vieillissement et l'hypertension artérielle. Il existe une lignée de rats spontanément hypertendus (SHR) reconnue comme un bon modèle pour étudier les mécanismes et les complications de l'hypertension artérielle (Dornas & Silva 2011). La description phénotypique de ce modèle a été réalisée par l'implantation de sondes télémétriques pour l'enregistrement de l'ECG. Deux groupes d'âge ont été étudiés : jeunes adultes (14 semaines d'âge) et adultes vieillissants (55 semaines d'âge). Le même type d'enregistrements a été effectué chez les contrôles normotendus des rats SHR, les rats Wistar Kyoto (WKY) qui sont issus du même stock de rats Wistar utilisé pour sélectionner la souche SHR (Okamoto & Aoki 1963). La méthode télémétrique a permis de réaliser des enregistrements continus de l'ECG pendant 24 h chez les rats vigils, non contraints, non reliés à un système d'enregistrement et maintenus dans leur environnement habituel. L'analyse des enregistrements de 24 h a révélé la survenue d'épisodes de TA chez le rat SHR vieillissant, épisodes qui ne sont jamais observés chez les rats WKY du même âge, ni chez les jeunes rats SHR ou WKY (Scridon *et al.* 2012). De plus, l'étude du système nerveux autonome

---

a suggéré un déséquilibre de la balance sympatho-vagale avec prédominance vagale qui pourrait être impliqué dans l'instabilité électrique atriale observée chez le rat SHR âgé. Enfin, une méthode de détection automatique des épisodes de TA, fondée sur l'analyse des intervalles RR, a été développée à l'aide de ce modèle (Gallet *et al.* 2013).

Les TA chez le rat SHR vieillissant sont caractérisées par des épisodes courts entrecoupés de battements sinusaux. Les arythmies réentrantes sont généralement considérées comme nécessitant une masse critique de tissu ( $> 100 - 200 \text{ mm}^3$ ) (Garrey 1914). Cela pourrait expliquer pourquoi la plupart des épisodes de TA chez le rat se terminent après quelques battements. Cependant, il convient de noter que des épisodes de FA soutenue ont été observés, d'une part chez des souris mutées vigiles ( $> 10 \text{ min}$ ) (Zhang *et al.* 2008) et d'autre part, chez des rats Wistar anesthésiés ayant subi un entraînement physique intense ( $> 15 \text{ min}$ ) (Guasch *et al.* 2013). Les arythmies atriales sont disposées de façon très hétérogène sur un enregistrement de 24 h. Elles sont généralement regroupées par clusters d'une durée de quelques minutes, et plusieurs heures peuvent se passer sans une seule extrasystole auriculaire. Cependant, les arythmies sont légèrement, mais significativement, plus fréquentes le jour que la nuit (résultats non publiés). Cela renforce l'hypothèse d'une implication du système nerveux parasympathique dans ces arythmies (Ashton *et al.* 2013). En effet, le rat étant moins actif le jour que la nuit, son tonus vagal est probablement plus élevé pendant cette période. Il y a aussi une variabilité interindividuelle du nombre d'arythmies, malgré l'homogénéité génétique présumée de la souche SHR. En effet, un rat SHR du groupe utilisé pour la détection automatique des arythmies ne présentait pas plus de 20 épisodes de TA sur 24 h, et ce, quel que soit son âge. À l'opposé, certains enregistrements effectués sur d'autres rats comptaient plusieurs milliers d'épisodes de TA.

Cette variabilité est à prendre en compte dans la mise en place des protocoles utilisant ce modèle. En effet, diverses substances ont été utilisées pour l'étude du système nerveux autonome, notamment l'atropine et l'aténolol qui ont été administrés en une injection par voie sous-cutanée. Même administrées à des doses élevées, l'effet de ces molécules s'atténue sensiblement au-delà de 30 minutes. Il n'a donc pas été possible de comparer de manière fiable le nombre d'arythmies avant et après blocage. Selon notre hypothèse de la participation vagale aux arythmies atriales, l'atropine aurait dû diminuer le nombre d'arythmies. Cependant, si aucune arythmie atriale n'a été observée durant l'intervalle d'action de l'atropine, les périodes précédant l'injection étaient pour certaines vierges d'arythmies. Ainsi, il n'a pas été possible de conclure quant à l'effet de l'atropine sur les arythmies atriales. Il est donc nécessaire de prolonger la durée du blocage, par exemple

---

en utilisant une mini-pompe osmotique qui permet d'administrer de manière continue la substance pendant plusieurs jours (Dinsdale & Verschoyle 1988 ; Watson *et al.* 1989). Comme nous avons montré que le nombre d'arythmies était reproductible sur deux périodes consécutives de 24 h, nous pourrions ainsi décrire correctement l'effet de l'atropine sur ces arythmies.

A l'inverse, nous avons réalisé une stimulation cholinergique par injection de carbamylcholine. Cependant, à la dose utilisée, l'effet était tellement puissant que la fréquence cardiaque diminuait en dessous de 150 bpm, avec apparition de blocs auriculo-ventriculaires. Une autre piste pour produire une stimulation parasympathique serait l'utilisation d'un inhibiteur des cholinestérases. Cette approche aurait l'avantage d'exacerber l'effet de l'activité parasympathique endogène en diminuant la dégradation intra-synaptique de son transmetteur. La pyridostigmine, qui a été utilisée récemment pour améliorer la fonction cardiaque dans un modèle d'infarctus chez le rat (de La Fuente *et al.* 2013 ; Lataro *et al.* 2013), est un bon candidat pour ce type d'études.

Disposer d'un algorithme de détection des arythmies est indispensable à l'utilisation de ce modèle en routine. En effet, un enregistrement de 24 heures avec plusieurs dizaines de milliers d'extrasystoles auriculaires peut nécessiter plus de 50 heures d'analyse. L'algorithme proposé permet de détecter correctement la grande majorité des arythmies, mais celui-ci possède cependant quelques limitations.

La principale caractéristique de cet algorithme est l'utilisation exclusive de la série d'intervalles RR. Il est donc important que les ondes R soient correctement détectées. La principale source de fausse détection d'ondes R est la présence d'artéfacts liés aux mouvements de l'animal. Ces fausses ondes R doivent être supprimées, car elles peuvent causer la détection d'un grand nombre de fausses arythmies. Une première approche pour une meilleure détection des ondes R est d'améliorer la qualité du signal. Une étude de Sgoifo *et al.* (1996) a proposé un positionnement des électrodes, notamment à l'aide de boucles, pour améliorer le rapport signal sur bruit de l'ECG télémétrique. Une deuxième solution pour améliorer la détection des ondes R est l'enregistrement de plusieurs dérivations. Il existe une sonde télémétrique conçue pour l'enregistrement de trois potentiels simultanément chez le rat (Bastlund *et al.* 2004 ; Williams *et al.* 2006). Cette sonde comporte trois paires d'électrodes pour les trois dérivations et une électrode de référence. Grâce à l'acquisition de deux dérivations supplémentaires, les ondes R peuvent être détectées sur les trois dérivations séparément, et validées par exemple si elles apparaissent sur au moins deux dérivations. Il existe aussi des méthodes plus complexes pour éliminer le bruit et les artéfacts lorsque plusieurs dérivations sont enregistrées, comme l'analyse

---

en composantes indépendantes (He *et al.* 2006 ; Milanesi *et al.* 2008). Cette méthode permet de séparer différentes sources indépendantes (activité atriale, activité ventriculaire, bruit). Cependant, l'utilisation de trois dérivations représente une complication importante, tant du point de vue chirurgical que du point de vue de l'analyse des données pour un avantage modeste en termes de reconnaissance des arythmies. L'enregistrement simultané de l'ECG et de la pression artérielle permet d'obtenir plus d'informations sur le rôle du système nerveux autonome, notamment par le calcul d'un index de sensibilité du baroréflexe cardiaque spontané (Oosting *et al.* 1997 ; Kanbar *et al.* 2007).

## Perspectives

Ce modèle d'arythmies atriales spontanées peut permettre d'examiner certaines hypothèses moléculaires de la FA. Des études récentes suggèrent que *Pitx2*, un facteur de transcription (paired-like homeodomain transcription factor 2), pourrait jouer un rôle important dans la pathogénie de la FA. Des études d'association pangénomique ont identifié des variants de séquences nucléotidiques sur le chromosome 4 à proximité de *Pitx2*, qui sont fortement associés à la FA (Parvez *et al.* 2013) et aux accidents vasculaires cérébraux d'origine cardio-embolique (Traylor *et al.* 2012), qui sont la complication majeure de la FA. Dans le tissu atrial gauche de patients souffrant de FA, une diminution de l'expression de *Pitx2* a été rapportée (Chinchilla *et al.* 2011). Enfin, chez des souris hétérozygotes invalidées pour *Pitx2*, la sensibilité à l'induction de la FA est fortement augmentée et ceci s'accompagne d'une diminution significative de la durée des potentiels d'action atriaux (Kirchhof *et al.* 2011). Chez le rat SHR vieillissant, comme chez le patient avec FA, il existe une sous-expression du gène *Pitx2* dans l'oreillette gauche (résultats non publiés). Un des mécanismes pouvant conduire à une diminution de la transcription d'un gène est la méthylation de son promoteur. Le projet a donc pour objectif de mesurer le degré de méthylation de *Pitx2* chez des rats SHR âgés (12 mois) et chez leurs contrôles normotendus du même âge. Si la méthylation exagérée de *Pitx2* chez le rat SHR est établie, les perspectives immédiates seront de réaliser une étude interventionnelle au moyen d'agents hypométhylants.

# Bibliographie

ADINSTRUMENTS : Labchart. URL <http://www.adinstruments.com>.

V. X. AFONSO, W. J. TOMPKINS, T. Q. NGUYEN, K. MICHLER & S. LUO : Comparing stress ECG enhancement algorithms. *IEEE Eng Med Biol Mag*, 15(3):37–44, 1996.

A. AL-FAHOUM & I. HOWITT : Combined wavelet transformation and radial basis neural networks for classifying life-threatening cardiac arrhythmias. *Med Biol Eng Comput*, 37(5):566–573, 1999.

M. A. ALLESSIE, P. A. BOYDEN, A. J. CAMM, A. G. KLÉBER, M. J. LEGATO, M. R. ROSEN, P. J. SCHWARTZ, P. M. SPOONER, D. R. VAN WAGONER & A. L. WALDO : Pathophysiology and prevention of atrial fibrillation. *Circulation*, 103(5):769–777, 2001.

F. ANSELME, S. LORiot, J.-P. HENRY, F. DIONNET, J.-G. NAPOLEONI, C. THUILLEZ & J.-P. MORIN : Inhalation of diluted diesel engine emission impacts heart rate variability and arrhythmia occurrence in a rat model of chronic ischemic heart failure. *Arch Toxicol*, 81(4):299–307, 2007.

J. L. ASHTON, J. F. PATON, M. L. TREW, I. J. LEGRICE & B. H. SMAILL : A working heart-brainstem preparation of the rat for the study of reflex mediated autonomic influences on atrial arrhythmia development. *In Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, pages 3785–3788. IEEE, 2013.

B. M. ASL, S. K. SETAREHDAN & M. MOHEBBI : Support vector machine-based arrhythmia classification using reduced features of heart rate variability signal. *Artif Intell Med*, 44(1):51–64, 2008.

K. AYTEMIR, S. AKSOYEK, A. YILDIRIR, N. OZER & A. OTO : Prediction of atrial fibrillation recurrence after cardioversion by P wave signal-averaged electrocardiography. *Int J Cardiol*, 70(1):15–21, 1999.

- G. G. BALTOGIANNIS, D. G. TSALIKAKIS, A. C. MITSI, K. E. HATZISTERGOS, D. ELAIOPOULOS, D. I. FOTIADIS, Z. S. KYRIAKIDES & T. M. KOLETTIS : Endothelin receptor-A blockade decreases ventricular arrhythmias after myocardial infarction in rats. *Cardiovasc Res*, 67(4):647–654, 2005.
- C. BARRÈS, Y. CHENG & C. JULIEN : Steady-state and dynamic responses of renal sympathetic nerve activity to air-jet stress in sinoaortic denervated rats. *Hypertension*, 43(3):629–635, 2004.
- J. F. BASTLUND, P. JENNUM, P. MOHAPEL, V. VOGEL & W. P. WATSON : Measurement of cortical and hippocampal epileptiform activity in freely moving rats by means of implantable radiotelemetry. *J Neurosci Methods*, 138(1):65–72, 2004.
- E. J. BENJAMIN, D. LEVY, S. M. VAZIRI, R. B. D’AGOSTINO, A. J. BELANGER & P. A. WOLF : Independent risk factors for atrial fibrillation in a population-based cohort. *JAMA*, 271(11):840–844, 1994.
- E. J. BENJAMIN, P. A. WOLF, R. B. D’AGOSTINO, H. SILBERSHATZ, W. B. KANNEL & D. LEVY : Impact of atrial fibrillation on the risk of death the Framingham Heart Study. *Circulation*, 98(10):946–952, 1998.
- M. BLANCO-VELASCO, B. WENG & K. E. BARNER : ECG signal denoising and baseline wander correction based on the empirical mode decomposition. *Comput Biol Med*, 38(1):1–13, 2008.
- C. BOIXEL, V. FONTAINE, C. RÜCKER-MARTIN, P. MILLIEZ, L. LOUEDEC, J.-B. MICHEL, M.-P. JACOB & S. N. HATEM : Fibrosis of the left atria during progression of heart failure is associated with increased matrix metalloproteinases in the rat. *J Am Coll Cardiol*, 42(2):336–344, 2003.
- A. J. CAMM, P. KIRCHHOF, G. Y. LIP, U. SCHOTTEN, I. SABELIEVA, S. ERNST, I. C. VAN GELDER, N. AL-ATTAR, G. HINDRICKS, B. PRENDERGAST *et al.* : Guidelines for the management of atrial fibrillation The Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*, 31(19):2369–2429, 2010.
- A. CAMM, M. MALIK, J. BIGGER, G. BREITHARDT, S. CERUTTI, R. COHEN, P. COUMEL, E. FALLEN, H. KENNEDY, R. KLEIGER *et al.* : Heart rate variability : standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of

- the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation*, 93(5):1043–1065, 1996.
- F. CARRÉ, Y. LESSARD, P. COUMEL, L. OLLIVIER, S. BESSE, Y. LECARPENTIER & B. SWYNGHEDAUW : Spontaneous arrhythmias in various models of cardiac hypertrophy and senescence of rats. A Holter monitoring study. *Cardiovasc Res*, 26(7):698–705, 1992.
- A. CHARLEMAGNE, J. BLACHER, A. COHEN, J.-P. COLLET, F. DIÉVART, P. de GROOTE, O. HANON, A. LEENHARDT, J.-F. PINEL, G. PISICA-DONOSE & J.-Y. LE HEUZEY : Epidemiology of atrial fibrillation in France : extrapolation of international epidemiological data to France and analysis of French hospitalization data. *Arch Cardiovasc Dis*, 104(2):115–124, 2011.
- A. CHINCHILLA, H. DAIMI, E. LOZANO-VELASCO, J. N. DOMINGUEZ, R. CABALLERO, E. DELPÓN, J. TAMARGO, J. CINCA, L. HOVE-MADSEN, A. E. ARANEGA & D. FRANCO : PITX2 insufficiency leads to atrial electrical and structural remodeling linked to arrhythmogenesis. *Circ Cardiovasc Genet*, 4(3):269–279, 2011.
- E.-K. CHOI, M. J. SHEN, S. HAN, D. KIM, S. HWANG, S. SAYFO, G. PICCIRILLO, K. FRICK, M. C. FISHBEIN, C. HWANG, S.-F. LIN & P.-S. CHEN : Intrinsic cardiac nerve activity and paroxysmal atrial tachyarrhythmia in ambulatory dogs. *Circulation*, 121(24):2615–2623, 2010.
- S. C. CHOISY, L. A. ARBERRY, J. C. HANCOX & A. F. JAMES : Increased susceptibility to atrial tachyarrhythmia in spontaneously hypertensive rat hearts. *Hypertension*, 49(3):498–505, 2007.
- S. S. CHUGH, J. L. BLACKSHEAR, W.-K. SHEN, S. C. HAMMILL & B. J. GERSH : Epidemiology and natural history of atrial fibrillation : clinical implications. *J Am Coll Cardiol*, 37(2):371–378, 2001.
- R. W. CHUI & H. M. VARGAS : A comparison of three software platforms for automated ECG analysis. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 60(1):28–38, 2009.
- P. COUMEL : Paroxysmal atrial fibrillation : a disorder of autonomic tone? *Eur Heart J*, 15(suppl A):9–16, 1994.
- S. DASH, K. CHON, S. LU & E. RAEDER : Automatic real time detection of atrial fibrillation. *Ann Biomed Eng*, 37(9):1701–1709, 2009.



- R. de LA FUENTE, B. RODRIGUES, I. MORAES-SILVA, L. SOUZA, R. SIRVENTE, C. MOSTARDA, K. ANGELIS, P. SOARES, S. LACCHINI & M. IRIGOYEN : Cholinergic stimulation with pyridostigmine improves autonomic function in infarcted rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2013.
- D. DINSDALE & R. VERSCHOYLE : Comparative toxicity of two trialkylphosphorothioates to rat lung and the effects of atropine sulphate pretreatment. *In The Target Organ and the Toxic Process*, pages 432–434. Springer, 1988.
- W. C. DORNAS & M. E. SILVA : Animal models for the study of arterial hypertension. *J Biosci*, 36(4):731–737, 2011.
- J. ECKSTEIN, S. VERHEULE, N. de GROOT, M. ALLESSIE & U. SCHOTTEN : Mechanisms of perpetuation of atrial fibrillation in chronically dilated atria. *Prog Biophys Mol Biol*, 97(2):435–451, 2008.
- emka TECHNOLOGIES : ecgauto. URL <http://ecg.emka.fr>.
- R. H. FALK : Atrial fibrillation. *N Engl J Med*, 344(14):1067–1078, 2001.
- A. K. FARRAJ, N. HAYKAL-COATES, D. W. WINSETT, M. S. HAZARI, A. P. CARLL, W. H. ROWAN III, A. D. LEDBETTER, W. E. CASCIO & D. L. COSTA : Increased nonconducted P-wave arrhythmias after a single oil fly ash inhalation exposure in hypertensive rats. *Environ Health Perspect*, 117(5):709–715, 2009.
- J. FARRÉ & H. J. WELLENS : Philippe Coumel : a founding father of modern arrhythmology. *Europace*, 6(5):464–465, 2004.
- R. FAZEL-REZAI, N. ROOT, A. RABBI, D. LEE & W. AHMAD : *Biomedical Signal Transceivers, Biomedical Engineering - From Theory to Applications*. Prof. Reza Fazel (Ed.), 2011.
- C. GALLET, B. CHAPUIS, V. ORÉA, A. SCRIDON, C. BARRÈS, P. CHEVALIER & C. JULIEN : Automatic Atrial Arrhythmia Detection Based on RR Interval Analysis in Conscious Rats. *Cardiovasc Eng Technol*, 4(4):535–543, 2013.
- W. E. GARREY : The nature of fibrillary contraction of the heart : its relation to tissue mass and form. *Am J physiol*, 33:397–414, 1914.



- A. L. GOLDBERGER, L. A. N. AMARAL, L. GLASS, J. M. HAUSDORFF, P. C. IVANOV, R. G. MARK, J. E. MIETUS, G. B. MOODY, C.-K. PENG & H. E. STANLEY : PhysioBank, PhysioToolkit, and PhysioNet : Components of a new research resource for complex physiologic signals. *Circulation*, 101(23):e215–e220, 2000.
- E. GUASCH, B. BENITO, X. QI, C. CIFELLI, P. NAUD, Y. SHI, A. MIGHIU, J.-C. TARDIF, A. TADEVOSYAN, Y. CHEN, M.-A. GILLIS, Y.-K. IWASAKI, D. DOBREV, L. MONT, S. HEXIMER & S. NATTEL : Atrial Fibrillation Promotion by Endurance Exercise : Demonstration and Mechanistic Exploration in an Animal Model. *J Am Coll Cardiol*, 62(1):68–77, 2013.
- A. HAGENDORFF, B. SCHUMACHER, S. KIRCHHOFF, B. LÜDERITZ & K. WILLECKE : Conduction disturbances and increased atrial vulnerability in Connexin40-deficient mice analyzed by transesophageal stimulation. *Circulation*, 99(11):1508–1515, 1999.
- R. L. HAMLIN : Non-drug-related electrocardiographic features in animal models in safety pharmacology. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 52(1):60–76, 2005.
- A. HANSSON, B. MADSEN-HÄRDIG & S. B. OLSSON : Arrhythmia-provoking factors and symptoms at the onset of paroxysmal atrial fibrillation : a study based on interviews with 100 patients seeking hospital assistance. *BMC Cardiovasc Disord*, 4:13, 2004.
- K. HAUGAN, H. R. LAM, C. B. KNUDSEN & J. S. PETERSEN : Atrial fibrillation in rats induced by rapid transesophageal atrial pacing during brief episodes of asphyxia : a new in vivo model. *J Cardiovasc Pharmacol*, 44(1):125–135, 2004.
- T. HE, G. CLIFFORD & L. TARASSENKO : Application of independent component analysis in removing artefacts from the electrocardiogram. *Neural Comput Appl*, 15(2):105–116, 2006.
- T. JEHAN : *Creating music by listening*. Thèse de doctorat, Massachusetts Institute of Technology, 2005.
- A. JOVIC & N. BOGUNOVIC : Evaluating and comparing performance of feature combinations of heart rate variability measures for cardiac rhythm classification. *Biomed Signal Process Control*, 7(3):245–255, 2012.
- C. JULIEN, C. CERUTTI, P. KANDZA, C. BARRES, D. SU, M. VINCENT & J. SASSARD : Cardiovascular response to emotional stress and spontaneous blood pressure variability

- in genetically hypertensive rats of the Lyon strain. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 15(7):533–538, 1988.
- R. KANBAR, V. ORÉA, B. CHAPUIS, C. BARRÈS & C. JULIEN : A transfer function method for the continuous assessment of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 293(5):R1938–R1946, 2007.
- S. KARA & M. OKANDAN : Atrial fibrillation classification with artificial neural networks. *Pattern Recognit*, 40(11):2967–2973, 2007.
- C. R. KERR, K. H. HUMPHRIES, M. TALAJIC, G. J. KLEIN, S. J. CONNOLLY, M. GREEN, J. BOONE, R. SHELDON, P. DORIAN & D. NEWMAN : Progression to chronic atrial fibrillation after the initial diagnosis of paroxysmal atrial fibrillation : results from the Canadian Registry of Atrial Fibrillation. *Am Heart J*, 149(3):489–496, 2005.
- J. KIM, H. S. SHIN, K. SHIN & M. LEE : Robust algorithm for arrhythmia classification in ECG using extreme learning machine. *Biomed Eng Online*, 8:31, 2009.
- S.-J. KIM, S. C. CHOISY, P. BARMAN, H. ZHANG, J. C. HANCOX, S. A. JONES & A. F. JAMES : Atrial remodeling and the substrate for atrial fibrillation in rat hearts with elevated afterload. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 4(5):761–769, 2011.
- P. KIRCHHOF, P. C. KAHR, S. KAESE, I. PICCINI, I. VOKSHI, H.-H. SCHELD, H. ROTERING, L. FORTMUELLER, S. LAAKMANN, S. VERHEULE, U. SCHOTTEN, L. FABRITZ & N. A. BROWN : PITX2c is expressed in the adult left atrium, and reducing Pitx2c expression promotes atrial fibrillation inducibility and complex changes in gene expression. *Circ Cardiovasc Genet*, 4(2):123–133, 2011.
- F. KOEPEL, D. LABARRE & P. ZITOUN : Quickly finding a needle in a haystack : A new automated cardiac arrhythmia detection software for preclinical studies. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 66(2):92–97, 2012.
- B.-U. KOHLER, C. HENNIG & R. ORGLMEISTER : The principles of software QRS detection. *IEEE Eng Med Biol Mag*, 21(1):42–57, 2002.
- M. H. KONG, L. K. SHAW, C. O’CONNOR, R. M. CALIFF, M. A. BLAZING & S. M. AL-KHATIB : Is Rhythm-Control Superior to Rate-Control in Patients with Atrial Fibrillation and Diastolic Heart Failure? *Ann Noninvasive Electrocardiol*, 15(3):209–217, 2010.

- D. E. LAKE & J. R. MOORMAN : Accurate estimation of entropy in very short physiological time series : the problem of atrial fibrillation detection in implanted ventricular devices. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 300(1):H319–H325, 2011.
- P. LANGLEY, M. DEWHURST, L. DI MARCO, P. ADAMS, F. DEWHURST, J. MWITA, R. WALKER & A. MURRAY : Accuracy of algorithms for detection of atrial fibrillation from short duration beat interval recordings. *Med Eng Phys*, 34(10):1441–1447, 2012.
- R. M. LATARO, C. SILVA, R. FAZAN JR, M. A. ROSSI, C. M. PRADO, R. O. GODINHO & H. C. SALGADO : Increase in parasympathetic tone by pyridostigmine prevents ventricular dysfunction during the onset of heart failure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 40(9):610–616, 2013.
- D. H. LAU, N. J. SHIPP, D. J. KELLY, S. THANIGAIMANI, M. NEO, P. KUKLIK, H. S. LIM, Y. ZHANG, K. DRURY, C. X. WONG *et al.* : Atrial arrhythmia in ageing spontaneously hypertensive rats : unraveling the substrate in hypertension and ageing. *PLoS One*, 8(8):e72416, 2013.
- C. LETELLIER, E. ROULIN, S. LORIOT, J.-P. MORIN & F. DIONNET : Symbolic dynamics for arrhythmia identification from heart variability of rats with cardiac failures. *In AIP Conf Proc*, volume 742, page 307, 2004.
- D. LI, S. FAREH, T. K. LEUNG & S. NATTEL : Promotion of atrial fibrillation by heart failure in dogs atrial remodeling of a different sort. *Circulation*, 100(1):87–95, 1999.
- B. LONDON, L. C. BAKER, J. S. LEE, V. SHUSTERMAN, B.-R. CHOI, T. KUBOTA, C. F. MC TIERNAN, A. M. FELDMAN & G. SALAMA : Calcium-dependent arrhythmias in transgenic mice with heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 284(2):H431–H441, 2003.
- A. R. LYON, M. L. BANNISTER, T. COLLINS, E. PEARCE, A. H. SEPEHRIPOUR, S. S. DUBB, E. GARCIA, P. O’GARA, L. LIANG, E. KOHLBRENNER *et al.* : SERCA2a gene transfer decreases sarcoplasmic reticulum calcium leak and reduces ventricular arrhythmias in a model of chronic heart failure. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 4(3):362–372, 2011.
- S. MALLAT : *A wavelet tour of signal processing*. Academic Press, 1999.

- J. MANT, D. A. FITZMAURICE, F. HOBBS, S. JOWETT, E. T. MURRAY, R. HOLDER, M. DAVIES & G. Y. LIP : Accuracy of diagnosing atrial fibrillation on electrocardiogram by primary care practitioners and interpretative diagnostic software : analysis of data from screening for atrial fibrillation in the elderly (SAFE) trial. *BMJ*, 335 (7616):380, 2007.
- C. MÉDIGUE, A. GIRARD, D. LAUDE, A. MONTI, M. WARGON & J.-L. ELGHOZI : Relationship between pulse interval and respiratory sinus arrhythmia : a time-and frequency-domain analysis of the effects of atropine. *Pflugers Arch*, 441(5):650–655, 2001.
- M. MILANESI, N. MARTINI, N. VANELLO, V. POSITANO, M. F. SANTARELLI & L. LAN-  
DINI : Independent component analysis applied to the removal of motion artifacts from electrocardiographic signals. *Med Biol Eng Comput*, 46(3):251–261, 2008.
- P. MILLIEZ, N. DEANGELIS, C. RUCKER-MARTIN, A. LEENHARDT, E. VICAUT, E. RO-  
BIDEL, P. BEAUFILS, C. DELCAYRE & S. N. HATEM : Spironolactone reduces fibrosis of dilated atria during heart failure in rats with myocardial infarction. *Eur Heart J*, 26(20):2193–2199, 2005.
- C. NADZIEJKO, K. FANG, S. NARCISO, M. ZHONG, W. C. SU, T. GORDON, A. NÁDAS &  
L. C. CHEN : Effect of particulate and gaseous pollutants on spontaneous arrhythmias in aged rats. *Inhal Toxicol*, 16(6-7):373–380, 2004.
- K. NISHIDA, G. MICHAEL, D. DOBREV & S. NATTEL : Animal models for atrial fibril-  
lation : clinical insights and scientific opportunities. *Europace*, 12(2):160–172, 2010.
- NOTOCORD : Arr30a. URL <http://www.notocord.com>.
- K. OKAMOTO & K. AOKI : Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J*, 27(3):282–293, 1963.
- B. OLSHANSKY : Interrelationships between the autonomic nervous system and atrial  
fibrillation. *Prog Cardiovasc Dis*, 48(1):57–78, 2005.
- N. ONO, H. HAYASHI, A. KAWASE, S.-F. LIN, H. LI, J. N. WEISS, P.-S. CHEN & H. S.  
KARAGUEUZIAN : Spontaneous atrial fibrillation initiated by triggered activity near  
the pulmonary veins in aged rats subjected to glycolytic inhibition. *Am J Physiol  
Heart Circ Physiol*, 292(1):H639–H648, 2007.

- J. OOSTING, H. A. STRUIJKER-BOUDIER & B. J. JANSSEN : Validation of a continuous baroreceptor reflex sensitivity index calculated from spontaneous fluctuations of blood pressure and pulse interval in rats. *J Hypertens*, 15(4):391–399, 1997.
- C. F. OPITZ, G. F. MITCHELL, M. A. PFEFFER & J. M. PFEFFER : Arrhythmias and Death After Coronary Artery Occlusion in the Rat Continuous Telemetric ECG Monitoring in Conscious, Untethered Rats. *Circulation*, 92(2):253–261, 1995.
- J. PAN & W. J. TOMPKINS : A real-time QRS detection algorithm. *IEEE Trans Biomed Eng*, (3):230–236, 1985.
- J. PARK, S. LEE & M. JEON : Atrial fibrillation detection by heart rate variability in Poincare plot. *Biomed Eng Online*, 8(1):38, 2009.
- B. PARVEZ, M. BENJAMIN SHOEMAKER, R. MUHAMMAD, R. RICHARDSON, L. JIANG, M. A. BLAIR, D. M. RODEN & D. DARBAR : Common genetic polymorphism at 4q25 locus predicts atrial fibrillation recurrence after successful cardioversion. *Heart Rhythm*, 2013.
- K. PEARSON : LIII. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *Philos Mag (Abingdon)*, 2(11):559–572, 1901.
- A. SCRIDON, C. GALLET, M. M. ARISHA, V. ORÉA, B. CHAPUIS, N. LI, A. TABIB, G. CHRISTÉ, C. BARRÈS, C. JULIEN & P. CHEVALIER : Unprovoked atrial tachyarrhythmias in aging spontaneously hypertensive rats : the role of the autonomic nervous system. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 303(3):H386–H392, 2012.
- A. SCRIDON, A. TABIB, C. BARRÈS, C. JULIEN & P. CHEVALIER : Left atrial endocardial fibrosis and intra-atrial thrombosis—landmarks of left atrial remodeling in rats with spontaneous atrial tachyarrhythmias. *Rom J Morphol Embryol*, 54(2):405, 2013.
- A. SGOIFO, D. STILLI, B. AIMI, S. PARMIGIANI, M. MANGHI & E. MUSSO : Behavioral and electrocardiographic responses to social stress in male rats. *Physiol Behav*, 55(2):209–216, 1994.
- A. SGOIFO, S. F. DE BOER, C. WESTENBROEK, F. W. MAES, H. BELDHUIS, T. SUZUKI & J. M. KOOLHAAS : Incidence of arrhythmias and heart rate variability in wild-type rats exposed to social stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 273(4):H1754–H1760, 1997.

- A. SGOIFO, D. STILLI, D. MEDICI, P. GALLO, B. AIMI & E. MUSSO : Electrode positioning for reliable telemetry ECG recordings during social stress in unrestrained rats. *Physiol Behav*, 60(6):1397–1401, 1996.
- A. N. SHAH, S. MITTAL, T. C. SICHROVSKY, D. COTIGA, A. ARSHAD, K. MALEKI, W. J. PIERCE & J. S. STEINBERG : Long-term outcome following successful pulmonary vein isolation : pattern and prediction of very late recurrence. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 19(7):661–667, 2008.
- M. J. SHEN, E.-K. CHOI, A. Y. TAN, S.-F. LIN, M. C. FISHBEIN, L. S. CHEN & P.-S. CHEN : Neural mechanisms of atrial arrhythmias. *Nat Rev Cardiol*, 9(1):30–39, 2012.
- P. P. STANICZENKO, C. F. LEE & N. S. JONES : Rapidly detecting disorder in rhythmic biological signals : A spectral entropy measure to identify cardiac arrhythmias. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*, 79(1):011915, 2009.
- J. STERN, K. HINCHCLIFF & P. CONSTABLE : Effect of body position on electrocardiographic recordings in dogs. *Aust Vet J*, 91(7):281–286, 2013.
- T. SUGIURA, H. HIRATA, Y. HARADA & T. KAZUI : Automatic discrimination of arrhythmia waveforms using fuzzy logic. In *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, pages 108–111. IEEE, 1998.
- K. TANAKA, S. ZLOCHIVER, K. L. VIKSTROM, M. YAMAZAKI, J. MORENO, M. KLOS, A. V. ZAITSEV, R. VAIDYANATHAN, D. S. AUERBACH, S. LANDAS *et al.* : Spatial distribution of fibrosis governs fibrillation wave dynamics in the posterior left atrium during heart failure. *Circ Res*, 101(8):839–847, 2007.
- K. TATENO & L. GLASS : A method for detection of atrial fibrillation using RR intervals. In *Comput Cardiol (2010)*, pages 391–394. IEEE, 2000.
- N. V. THAKOR & Y.-S. ZHU : Applications of adaptive filtering to ECG analysis : noise cancellation and arrhythmia detection. *IEEE Trans Biomed Eng*, 38(8):785–794, 1991.
- W. J. TOMPKINS : *Biomedical digital signal processing : C-language examples and laboratory experiments for the IBM PC*. Prentice Hall Englewood Cliffs, 1993.
- M. TRAYLOR, M. FARRALL, E. G. HOLLIDAY, C. SUDLOW, J. C. HOPEWELL, Y.-C. CHENG, M. FORNAGE, M. A. IKRAM, R. MALIK, S. BEVAN *et al.* : Genetic risk factors for ischaemic stroke and its subtypes (the METASTROKE Collaboration) : a meta-analysis of genome-wide association studies. *Lancet Neurol*, 2012.

- E. D. ÜBEYLI : ECG beats classification using multiclass support vector machines with error correcting output codes. *Digit Signal Process*, 17(3):675–684, 2007.
- T. VERPLANCKE, S. VAN LOOY, D. BENOIT, S. VANSTEELANDT, P. DEPUYDT, F. DE TURCK & J. DECRUYENAERE : Support vector machine versus logistic regression modeling for prediction of hospital mortality in critically ill patients with haematological malignancies. *BMC Med Inform Decis Mak*, 8(1):56, 2008.
- H. WAKIMOTO, C. T. MAGUIRE, P. KOVOOR, P. E. HAMMER, J. GEHRMANN, J. K. TRIEDMAN & C. I. BERUL : Induction of atrial tachycardia and fibrillation in the mouse heart. *Cardiovasc Res*, 50(3):463–473, 2001.
- G. WATSON, S. PEARSON, J. FALANY, D. CULP, L. TABAK & W. BOWEN : The effect of chronic atropine treatment on salivary composition and caries in rats. *J Dent Res*, 68(12):1739–1745, 1989.
- M. C. WIJFFELS, C. J. KIRCHHOF, R. DORLAND & M. A. ALLESSIE : Atrial fibrillation begets atrial fibrillation A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation*, 92(7):1954–1968, 1995.
- M. WILHELM : Atrial fibrillation in endurance athletes. *Eur J Prev Cardiol*, 2013.
- P. WILLIAMS, A. WHITE, D. FERRARO, S. CLARK, K. STALEY & F. E. DUDEK : The use of radiotelemetry to evaluate electrographic seizures in rats with kainate-induced epilepsy. *J Neurosci Methods*, 155(1):39–48, 2006.
- S. WINTERS-HILT & S. MERAT : SVM clustering. *BMC Bioinformatics*, 8(Suppl 7):S18, 2007.
- P. A. WOLF, R. D. ABBOTT & W. B. KANNEL : Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke : the Framingham Study. *Stroke*, 22(8):983–988, 1991.
- H. D. XIAO, S. FUCHS, D. J. CAMPBELL, W. LEWIS, S. C. DUDLEY JR, V. S. KASI, B. D. HOIT, G. KESHELAVA, H. ZHAO, M. R. CAPECCHI *et al.* : Mice with cardiac-restricted angiotensin-converting enzyme (ACE) have atrial enlargement, cardiac arrhythmia, and sudden death. *Am J Pathol*, 165(3):1019–1032, 2004.
- D. XU, N. MURAKOSHI, H. TADA, M. IGARASHI, Y. SEKIGUCHI & K. AONUMA : Age-Related Increase in Atrial Fibrillation Induced by Transvenous Catheter-Based Atrial Burst Pacing : An In Vivo Rat Model of Inducible Atrial Fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 21(1):88–93, 2010.



- F. YAGHOUBY, A. AYATOLLAHI, R. BAHRAMALI, M. YAGHOUBY & A. H. ALAVI :  
Towards automatic detection of atrial fibrillation : A hybrid computational approach.  
*Comput Biol Med*, 40(11):919–930, 2010.
- X. ZHANG, S. CHEN, S. YOO, S. CHAKRABARTI, T. ZHANG, T. KE, C. OBERTI, S. L.  
YONG, F. FANG, L. LI *et al.* : Mutation in nuclear pore component NUP155 leads to  
atrial fibrillation and early sudden cardiac death. *Cell*, 135(6):1017–1027, 2008.



---

## RÉSUMÉ

La fibrillation atriale est la plus fréquente des arythmies cardiaques et sa physiopathologie reste mal comprise. Il n'existe pas actuellement de modèle animal dans lequel cette arythmie survienne de manière spontanée. Comme l'âge et l'hypertension artérielle sont deux facteurs de risque majeurs de la fibrillation atriale chez l'Homme, nous avons recherché si le rat spontanément hypertendu (SHR) vieillissant (11-13 mois d'âge) développe cette pathologie.

Des enregistrements télémetriques de 24 h de l'électrocardiogramme (ECG) ont été réalisés dans 4 groupes de rats vigils. Ils ont révélé chez le rat SHR vieillissant la présence de nombreux épisodes de tachyarythmie atriale non soutenus, épisodes qui ne sont pas observés chez le rat SHR jeune ni chez le rat normotendu Wistar Kyoto jeune ou vieillissant.

Les résultats rapportés ci-dessus ont été obtenus grâce à l'analyse visuelle de l'intégralité de chaque enregistrement ECG, ce qui représente une durée d'analyse incompatible avec des expérimentations de routine. Nous avons donc choisi de développer une méthode automatique de reconnaissance des arythmies atriales chez le rat vigile. Cette méthode utilise exclusivement les intervalles RR car les ondes P ne peuvent pas toujours être identifiées avec fiabilité dans les enregistrements télémetriques de l'ECG. Elle repère les motifs caractéristiques de tachyarythmie grâce à une structure d'automate, et présente une bonne performance sur les enregistrements télémetriques déjà réalisés.

Le nouveau modèle animal, conjointement à la nouvelle méthode automatique d'analyse de l'ECG, devrait permettre de réaliser les analyses phénotypiques de qualité indispensables aux hypothèses physiopathologiques moléculaires actuellement avancées dans la fibrillation atriale.

---

## AUTOMATED ANALYSIS OF THE ELECTROCARDIOGRAPHIC SIGNAL ON ATRIAL ARRHYTHMIAS IN CONSCIOUS RATS

---

### SUMMARY

Atrial fibrillation is the most common cardiac arrhythmia and its pathophysiology is still poorly understood. To date, there is no animal model in which the arrhythmia occurs spontaneously. As age and hypertension are major risk factors of atrial fibrillation in humans, we examined whether the aging (11-13 months of age) spontaneously hypertensive rat (SHR) develops this pathology.

Telemetric recordings of electrocardiogram (ECG) were obtained in four groups of conscious rats. They revealed the presence in the aging SHR of many non-sustained atrial tachyarrhythmic episodes that were observed neither in the young SHR nor in the young or aging normotensive Wistar Kyoto rat.

These results were obtained by visual examination of the whole ECG recordings, which is extremely time consuming and thus, not compatible with routine experiments. Therefore, we chose to develop an automated method to detect atrial arrhythmias in the conscious rat. This method only uses RR intervals because P waves cannot always be accurately identified in telemetric recordings. It recognizes characteristic patterns of tachyarrhythmia by using an automaton structure, and shows a good performance when applied to previously collected telemetric data.

The new animal model, together with the new, automated method of ECG analysis, are expected to be extremely useful for producing high quality phenotypic data, which are necessary to test present molecular hypotheses of atrial fibrillation pathophysiology.

---

DISCIPLINE : Biologie, Médecine, Santé

---

MOTS-CLÉS : fibrillation atriale, électrocardiogramme, analyse automatique

KEYWORDS : atrial fibrillation, electrocardiogram, automatic analysis

---

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'U.F.R. OU DU LABORATOIRE :

EA 4612 : Unité de Neurocardiologie Université Claude Bernard LYON 1, Faculté de Pharmacie, 8 avenue Rockefeller, 69008 LYON